

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAURÍCIO NARDI

ANALISADOR NÃO INVASIVO DA CONCENTRAÇÃO DE BILIRRUBINA

CURITIBA

2017

MAURÍCIO NARDI

ANALISADOR NÃO INVASIVO DA CONCENTRAÇÃO DE BILIRRUBINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Área de Concentração Sistemas Eletrônicos, Departamento de Engenharia Elétrica, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica.

Orientador: Prof. Dr. Marlio J. do C. Bonfim

CURITIBA

2017

N223a Nardi, Mauricio

Analisador não invasivo da concentração de bilirrubina / Mauricio Nardi. – Curitiba, 2017.

82f. : il. [algumas color.] ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica, 2017.

Orientador: Marlio J. do C. Bonfim.

Bibliografia: p. 61-64.

1. Instrumentos médicos. 2. Bilirrubinômetro. 3. Amplificador lock-in.
I. Universidade Federal do Paraná. II. Bonfim, Marlio J. do C. III. Título.

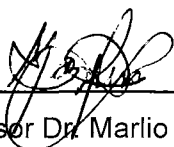
CDD: 610.284

TERMO DE APROVAÇÃO


MAURICIO NARDI

ANALISADOR NÃO INVASIVO DA CONCENTRAÇÃO DE BILIRRUBINA

Dissertação de Mestrado elaborado por Maurício Nardi, sob a orientação do Dr. Marlio J. do C. Bonfim, como requisito para obtenção grau de Mestrado em Engenharia Elétrica, pelo programa de Pós-Graduação em Engenharia elétrica, na Universidade Federal do Paraná.



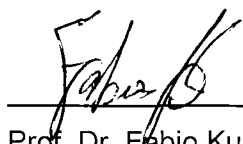
Professor Dr. Marlio J. do C. Bonfim



Maurício Nardi



Prof. Dr. Evelio Martín García Fernández



Prof. Dr. Fabio Kurt Schneider

Curitiba, 25 de Agosto de 2017.

DEDICATÓRIA

Dedico este projeto a comunidade científica do Brasil cujos anseios por novos desenvolvimentos tecnológicos são alargados pelo comprometimento e engajamento dos pesquisadores brasileiros.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de expressar minha gratidão a Deus que me proporcionou o dom vida o qual sou grato e busco em todos os meus dias expressar esta gratidão com pequenos, porém sinceros, gestos de humildade e simpatia para com todas as pessoas.

Agradeço ao Prof. Dr. Marlio J. do C. Bonfim cujo apoio foi imprescindível para o desenvolvimento deste projeto, juntamente com o doutorando em Engenharia Elétrica Bruno Ricobom e o aluno de graduação em Engenharia Elétrica Rafael Mendes que expressaram valiosas contribuições para este projeto, inclusive durante minha ausência devido viagens por trabalho.

Também estendo este agradecimento aos meus familiares, mãe Evani Domingos, pai Francisco Carlos Nardi e irmã Cristiane Nardi cujo incentivo no estudo possibilitou o meu desenvolvimento como cidadão, contribuindo com a comunidade científica do Brasil, trazendo o desenvolvimento de tecnologia nacional no ramo de engenharia biomédica.

Gostaria de agradecer ao núcleo do programa de Pós Graduação da UFPR e ao LAMMI (Laboratório de Magnetismo, Medidas e Instrumentação) por conceder os equipamentos e infraestrutura necessários para o desenvolvimento desta pesquisa e ao Hospital das Clínicas de Curitiba, especialmente à médica Patrícia Povaluk, no fornecimento dos dados referente ao estudo de confiabilidade dos protótipos desenvolvidos.

EPÍGRAFE

“O segredo da saúde mental e corporal está em não se lamentar pelo passado, não se preocupar com o futuro, nem se adiantar aos problemas, mas viver sabia e seriamente o presente.”

Buda.

RESUMO

A icterícia é uma manifestação clínica caracterizada pela coloração amarela da pele, mucosas e escleróticas devido a elevada concentração de bilirrubina na corrente sanguínea. Em casos de demora no diagnóstico, o paciente pode desenvolver uma intoxicação na massa encefálica, provando uma encefalopatia que pode resultar em óbito. Os métodos tradicionais para determinação da concentração da bilirrubina baseiam-se na análise laboratorial de amostras de sangue e reagente específicos, no entanto demandam tempo de análise e oferecem um procedimento dolorido ao paciente.

Os bilirrubinômetros são equipamentos eletrônicos responsáveis pela medição indireta da concentração de bilirrubina a partir da análise espectrofotometria da reflexão dos raios incididos na pele. Os equipamentos disponíveis atualmente no mercado (BiliCheck e Minolta JM-103) utilizam um método evasivo (contato físico com a pele) e apresentam um elevado custo aos hospitais podendo chegar até R\$ 30.000,00.

O projeto BiliUFPR surgiu em 2006 com intuito de fornecer um equipamento de baixo custo (inferior à R\$ 200,00) e confiável para o diagnóstico de icterícia. Neste trabalho serão apresentadas duas versões. A versão BiliUFPR V1.2 que é um aprimoramento de um projeto anterior e a versão BiliUFPR V2.0 que manteve o propósito de possuir um baixo custo e propõe a medição sem contato físico o que evita o risco de contaminação e permite o acesso a lugares mais restritos (incubadoras).

Palavras chaves: bilirrubinômetro; icterícia; espectrofotometria; amplificador lock-in.

ABSTRACT

Jaundice is a clinical manifestation characterized by the yellow coloration of the skin, mucous membranes and sclera due to the high concentration of bilirubin in the bloodstream. In cases of diagnosis delayed, the patient may develop encephalic intoxication, resulting in encephalopathy that can result in death.

Traditional methods for determining bilirubin concentration are based on laboratory analysis of blood sample and reagent samples, however they require a large time to analyze and offer a painful procedure to the patient.

Bilirubinometers are electronic devices responsible for the indirect measurement of bilirubin concentration from the spectrophotometric analysis of the reflection of the rays applied on the skin. Currently, the equipment available on the market (BiliCheck and Minolta JM-103) uses an evasive method (physical contact with the skin) and presents a high cost to hospitals that can reach up to R \$ 30,000.00. The BiliUFPR project was created in 2006 focused at providing a low cost equipment (less than R \$ 200,00) and reliable for the diagnosis of jaundice. In this paper, two versions will be presented. The BiliUFPR version V1.2, which is an improvement of a previous project and the version BiliUFPR V2.0 that maintained the purpose of having a low cost and proposes the measurement without physical contact which avoids the risk of contamination and allows access to restricted places (incubators).

Keywords: bilirubiometer; Jaundice; Spectrophotometry; lock-in amplifier

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Amostra de sangue com excesso bilirrubina (CLEMON, 2000;PICO; MACIÁ, 2011).....	1
Figura 2 - Recém-nascido com doença de Kernicterus (MAISELD; 2006).....	1
Figura 3 - Bilicehck (Philips) custo R\$ 22,050.00 (A), Drager custo R\$ 16,832.00 (B) e Minolta (JM-103) custo R\$ 35,000.00 (C) (BERHMAN; KLIEGMAN, 1991; KENNER, 2001; ENK et al., 2009; ALLA et al., 2010).....	2
Figura 4 - BiliUFPR V1.0. Fonte: (MINERVI,2013).....	3
Figura 5 - BiliUFPR V1.1 e V1.2. Fonte: O autor.....	4
Figura 6 - Componentes envolvidos na reflexão do feixe luminoso (MAISELD; 2006)	8
Figura 7 - Diagrama de absorção de um feixe de luz atravessando uma cubeta de tamanho l Fonte: (BHUTANI et al., 2000).....	9
Figura 8 - Utilização de bilirrubinômetro transcutâneo em recém-nascidos Fonte: (BHUTANI et al., 2000)	10
Figura 9 - Diagrama esquemático do equipamento Bilicheck. Fonte (MAISELD; 2006).....	11
Figura 10 - Caminhos ópticos percorridos pelos feixes do JM-103. Fonte: (MAISELS, 2006)	11
Figura 11 - Diagrama simplificador de operação do BiliUFPR. Fonte: O Autor.....	12
Figura 12 - Absorvência de luz da bilirrubina e hemoglobina somada com o efeito da absorção da melanina. Fonte: (BHUTANI et al., 2000)	13
Figura 13 - Gráfico absorção componentes derme - Led azul. Fonte: (BHUTANI et al., 2000).....	14
Figura 14 - - Gráfico absorção componentes derme - Led laranja. Fonte: (BHUTANI et al., 2000).....	15
Figura 15 - - Gráfico absorção componentes derme - Led vermelho. Fonte: (BHUTANI et al., 2000).....	15
Figura 16 - - Gráfico absorção componentes derme - Led verde. Fonte: (BHUTANI et al., 2000).....	17
Figura 17 - Foto do fototransistor SFH300. Fonte: (site: OSRAM-OS).....	19
Figura 18 - Gráfico da sensibilidade espectral relativa fototransistor SFH300. Fonte: (site: OSRAM-OS).....	20
Figura 19 - Processo iterativo de aproximações sucessivas. Fonte: notas de aulas da disciplina TE149 do Prof. Dr. Marlio J. C. Bonfim.	21
Figura 20 - Calibração passo 1: LED Azul ligado e demais desligados. Calibração passo 2: LED verde ligado e demais desligados Fonte: O autor.....	22
Figura 21- Correlação entre a bilirrubina sérica e a BiliUFPR V1.1 Fonte: O autor.	24
Figura 22 - Fluxograma BiliUFPR versão V1.2. Fonte: O autor.....	25
Figura 23 - Forma de onda da rotina de calibração. Fonte: O autor.....	26
Figura 24 - Valores de tensão na superfície branca. Fonte: O autor.....	27
Figura 25 - Valores de tensão na superfície preta. Fonte: O autor.....	27

Figura 26 - Correlação entre a medição realizada com BiliUFPR com a medição realizada pelo JM-103. Fonte: O autor.	28
Figura 27 - Bland-Altman - Diferença entre as medidas da concentração de bilirrubina dos bilirubinômetros BiliUFPR V1.2 e JM-103. Fonte: O autor.	29
Figura 28 - Diagrama de blocos de um LIA clássico. Fonte: O autor.	33
Figura 29 - Representação das amostragens em fase e quadratura. Fonte: O autor.	36
Figura 30 - Fluxograma do firmware - loop principal (esquerda) e sub-rotina de aquisição (direita). Fonte: O autor.	38
Figura 31 - Diagrama esquemático do filtro passa-banda ativo feedback múltiplo de segunda ordem usado em nossa implementação LIA antes da conversão ADC. Fonte: O autor.	39
Figura 32 - Resposta em frequência do filtro passa-banda medido com um Vector Network Analyzer (HP3577A), mostrando uma frequência central de 4,1 kHz. Fonte: O autor.	40
Figura 33 - Diagrama simplificado LIA para a medição de um sinal luminoso modulado. Fonte: O autor.	40
Figura 34 - Determinação dos pontos para equacionamento reta melanina. Fonte: O autor.	42
Figura 35 - Medição do comprimento de onda dos LEDs. Fonte: O autor.	43
Figura 36 - Circuito filtro passa baixa. Fonte: O autor.	45
Figura 37 - Resposta em frequência vs atenuação do filtro passa baixa. Fonte: O autor.	46
Figura 38 - Diagrama simplificado do BiliUFPR V2.0	47
Figura 39 - Diagrama simplificado A da rotina de calibração do BiliUFPR V2.0	48
Figura 40 - Diagrama simplificado B da rotina de calibração do BiliUFPR V2.0	49
Figura 41 - Diagrama simplificado da rotina de medição do BiliUFPR V2.0	50
Figura 42 -Forma de onda da rotina de calibração. Fonte: O autor.	51
Figura 43 – Sincronismo da amostragem do lock in para determinação da amplitude em fase com o sinal modulante. Fonte: O autor	52
Figura 44 - Superfícies amarelas com respectivos valores de concentração de bilirrubina. Fonte: (ASYRAF HAKIMI, 2016).....	54
Figura 45 - Resultados de 100 medições em cada intervalo das superfícies amarelas – BiliUFPR V1.2	55
Figura 46 - Resultados de 100 medições em cada intervalo das superfícies amarelas – BiliUFPR V2.0	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Intervalos de correlação de Pearson. Fonte: (TANJA, 2009)	23
Tabela 2- Comparativo amplificador lock in tradicional e proposto	37
Tabela 3 – Comparativo entre os comprimentos de onda dos LEDs utilizados nas versões BiliUFPR 1 e 2. Fonte: O autor.	43
Tabela 4 – Resultados de 100 medições em uma superfície branca em ambientes claros (499 lux) e escuros (4 lux) do BiliUFPR V2.0. Fonte: O autor.	53
Tabela 5 – Resultados de 100 medições de uma superfície preta em ambientes claros (499 lux) e escuros (4 lux). Fonte: O autor.	54

LISTA DE SIGLAS

<i>RN</i>	<i>Recém-nascido</i>
<i>HC</i>	<i>Hospital das Clínicas de Curitiba</i>
<i>LIA</i>	<i>Lock-in amplifier (amplificador lock-in)</i>
<i>PSD</i>	<i>Phase sensitive detector (detector sensível à fase)</i>
<i>SNR</i>	<i>Signal noise ratio (relação sinal ruído)</i>
<i>IV</i>	<i>Infravermelho</i>
<i>VD</i>	<i>Verde</i>
<i>VM</i>	<i>Vermelho</i>
<i>AZ</i>	<i>Azul</i>
<i>LA</i>	<i>Laranja</i>
<i>BTc</i>	<i>Bilirrubina transcutânea</i>
<i>ALU</i>	<i>Arithmetic logic unit</i>
<i>ADC</i>	<i>Analog to digital converter</i>
<i>UTI</i>	<i>Unidade de terapia intensiva</i>
<i>PWM</i>	<i>Pulse width modulation</i>
<i>V1.0</i>	<i>Versão 1 subversão 0 do bilirubinômetro BiliUFPR</i>
<i>V1.1</i>	<i>Versão 1 subversão 1 do bilirubinômetro BiliUFPR</i>
<i>V1.2</i>	<i>Versão 1 subversão 2 do bilirubinômetro BiliUFPR</i>
<i>V2.0</i>	<i>Versão 2 subversão 0 do bilirubinômetro BiliUFPR</i>
<i>UFPR</i>	<i>Universidade Federal do Paraná</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

α	absorvência molar da substância
Ω	resistência elétrica
P_i	Potência luz incidente
P_R	Potência da luz refletida
A_{Bi}	Abosorvência da bilirrubina
A_{Hg}	Abosorvência da hemoglobina
A_{Ml}	Abosorvência da melanina
K_1	Constante 1 biliUFPR
K_2	Constante 2 biliUFPR
K_3	Constante 3 biliUFPR
$V_1(t)$	Sinal entrada amplificador lock-in
$V_2(t)$	Sinal referência amplificador lock-in
V_{P1}	Amplitude de pico do sinal de entrada
V_{P2}	Amplitude de pico do sinal referência
ω_1	Frequência angular do sinal de entrada
ω_2	Frequência angular do sinal de referência
θ_1	Fase do sinal de entrada
θ_2	Fase do sinal de referência
$V_{PSD}(t)$	Fase sensível a tensão
$V_{PSD\ I\ AVG}$	Componente em fase do PSD tradicional
$V_{PSD\ Q\ AVG}$	Componente em quadratura do PSD tradicional
$V_{PSD\ I\ Q}$	Componente em quadratura do PSD proposto
$V_{PSD\ I}$	Componente em fase do PSD proposto

S_a	<i>Amostra em quadratura 0°</i>
S_b	<i>Amostra em fase 90°</i>
S_c	<i>Amostra em quadratura 180°</i>
S_d	<i>Amostra em quadratura 270°</i>
f_c	<i>Frequência central</i>
m_r	<i>Coeficiente angular da reta</i>
R_1	<i>Resistor 1 do filtro passa-banda ativo feedback</i>
R_2	<i>Resistor 2 do filtro passa-banda ativo feedback</i>
R_3	<i>Resistor 3 do filtro passa-banda ativo feedback</i>
R_{eq}	<i>Resistor equivalente do filtro passa-banda ativo feedback</i>
C_1	<i>Capacitor 1 do filtro passa-banda ativo feedback</i>
C_2	<i>Capacitor 2 do filtro passa-banda ativo feedback</i>
Q	<i>Fator de qualidade do filtro passa-banda ativo feedback</i>
A_{max}	<i>Ganho máximo do filtro passa-banda ativo feedback</i>
β	<i>Coeficiente exponencial do filtro</i>

SUMÁRIO

1	Introdução	1
1.1	Justificativa do trabalho	2
1.2	Histórico BiliUFPR.....	3
1.2.1	BiliUFPR V1.1 e V1.2	4
1.2.2	BiliUFPR V2.0.....	4
1.3	Objetivo geral	5
1.4	Objetivos específicos	5
1.4.1	BiliUFPR versão 1.2 (medição com contato físico)	5
1.4.2	BiliUFPR versão 2.0 (medição sem contato físico)	6
1.5	Estrutura do trabalho.....	6
2	Princípio de funcionamento do bilirrubinômetro.....	8
2.1	Bilirrubinômetros comerciais	10
2.1.1	BiliCheck.....	10
2.1.2	Minolta	11
2.2	BiliUFPR.....	12
2.2.1	Calibração por algoritmo de aproximação sucessiva.....	20
3	Análise de dados do BiliUFPR versão 1	23
3.1	BiliUFPR V1.1	23
3.1.1	Análise estatística BiliUFPR V1.1 – Resultado teste <i>in vivo</i>	23
3.2	BiliUFPR V1.2	24
3.2.1	Hardware	24
3.2.2	Software	25
3.2.3	Validação laboratorial	26
3.2.4	Análise estatística BiliUFPR V1.2 – Resultados <i>in vivo</i>	28
3.3	Conclusões parciais	30
4	Protótipo BiliUFPR versão 2	31
4.1	Amplificador lock-in	31
4.1.1	Embasamento matemático	33
4.1.2	Implementação	37

4.1.3	Resultado para medida de intensidade luminosa	40
4.2	Alteração do intervalo de aquisição dados.....	42
4.3	Hardware.....	44
4.3.1	Filtro Passa-baixa para o PWM	45
4.4	Software	46
4.5	Princípio de funcionamento BiliUFPR V2.0	47
4.5.1	Rotina de calibração	47
4.5.2	Rotina de medição.....	49
4.6	Validação laboratorial.....	50
4.6.1	Rotina de calibração	51
4.6.2	Rotina de medição.....	52
4.6.3	Considerações relativas à distância de medição	56
4.7	Conclusões parciais	57
5	Conclusões e perspectivas.....	59
	Referências Bibliográficas	61
	Apêndice I. Artigo enviado para a revista RSI (<i>Review of Scientist Instruments</i>).....	65
	Apêndice II. Programação do microcontrolador MSP430G2553	70

1 Introdução

A bilirrubina é uma substância com pigmento amarelo encontrada na bile e que permanece no sangue até ser eliminada na urina. A icterícia, também denominada hiperbilirrubina, é uma doença caracterizada pela elevada concentração de bilirrubina no sangue que resulta numa coloração com tonalidade amarela da pele. A Figura 1 exibe uma amostra de sangue com excesso de bilirrubina. Esta doença quando diagnosticada em recém nascidos denomina-se icterícia neonatal. (CLEMONS, 2000; PICO; MACIÁ, 2011).



Figura 1 - Amostra de sangue com excesso bilirrubina (CLEMON, 2000;PICO; MACIÁ, 2011).

A icterícia neonatal é uma manifestação clínica comum em recém nascidos a termo apresentando percentuais de 30% a 60% e de 80% a 100% para prematuros. No entanto esta doença torna-se clinicamente evidente a partir de níveis de bilirrubina sérica acima de 5 mg/dl. Na maioria dos casos esta manifestação é transitória e não requer intervenção terapêutica. Segundo a Dr^a Cecilia Maria Draque da UNIFESP, a icterícia neonatal, com elevadas concentrações, pode resultar no aparecimento da kernicterus que é uma doença com sequelas clínicas permanentes devido a toxicidade da bilirrubina a qual apresenta risco de óbito ao paciente. (ENK et al., 2009)



Figura 2 - Recém-nascido com doença de Kernicterus (MAISELD; 2006)

A medição da concentração de bilirrubina pode ser obtida através de métodos invasivos (tradicionais) com a necessidade de coletar amostras de sangue, no entanto este é um método dolorido e demanda um tempo de análise por um laboratório embora apresente boa confiabilidade dos resultados. A partir da análise espectral de frequência dos raios refletidos da pele é possível determinar a concentração de bilirrubina no sangue. Este método consiste em filtrar o espectro de frequência referente ao pico de reflexão da molécula de bilirrubina (455nm – cor azul) desconsiderando as demais contribuições que são refletidas nesta faixa de frequência. (BERHMAN; KLIEGMAN, 1991; KENNER, 2001; ENK et al., 2009; ALLA et al., 2010).

1.1 Justificativa do trabalho

Atualmente no mercado existem diversas opções de bilirrubinômetros disponíveis, como por exemplo o Bilicheck (Philips), Drager e o Minolta (JM-103). A grande desvantagem destes equipamentos é referente ao elevado custo de aquisição que pode chegar até R\$ 35,000.00. A Figura 3 ilustra alguns dos bilirrubinômetros comercializáveis. (BERHMAN; KLIEGMAN, 1991; KENNER, 2001; ENK et al., 2009; ALLA et al., 2010).



Figura 3 - Bilicehck (Philips) custo R\$ 22,050.00 (A), Drager custo R\$ 16,832.00 (B) e Minolta (JM-103) custo R\$ 35,000.00 (C) (BERHMAN; KLIEGMAN, 1991; KENNER, 2001; ENK et al., 2009; ALLA et al., 2010)

O elevado custo deste equipamento impossibilita que esta tecnologia seja amplamente disponibilizada aos hospitais públicos o que restringe à utilização

de métodos invasivos (exame de sangue) para determinação da concentração de bilirrubina. Estes métodos implicam na demora do diagnóstico da icterícia neonatal ao passo que o sangue coletado deve ser enviado ao laboratório para análise. Se o sangue do recém-nascido apresentar elevada concentração de bilirrubina, esta pode se alojar no cérebro desse e desenvolver doenças, como por exemplo a Kernicterus resultando ao óbito, portanto a agilidade do diagnóstico é imprescindível. Não obstante, os atuais bilirrubinômetros, disponíveis no mercado, necessitam do contato físico com a pele o que representa um risco de contaminação aos recém-nascidos. (BERHMAN; KLIEGMAN, 1991; KENNER, 2001; ENK et al., 2009; ALLA et al., 2010).

1.2 Histórico BiliUFPR

A ideia de se desenvolver um bilirrubinômetro na UFPR (BiliUFPR), em conjunto com o Hospital das Clínicas de Curitiba, surgiu em meados de 2006 com o objetivo de obter um equipamento de baixo custo possibilitando sua disseminação principalmente em hospitais da rede pública. Nos anos seguintes, o aprimoramento desta pesquisa prosseguiu com diversas inovações, no entanto mantendo-se a necessidade de contato físico do equipamento com a pele para realizar medição da concentração da bilirrubina. O primeiro protótipo do BiliUFPR V1.0 foi desenvolvido pelos alunos de graduação Fernando Pilato e Arielton Trento, e foi objeto de estudo de uma tese de doutorado no HC, defendida por Elisângela Minervi em 2013. (MINERVI,2013).



Figura 4 - BiliUFPR V1.0. Fonte: (MINERVI,2013).

1.2.1 BiliUFPR V1.1 e V1.2

A médica Patricia Povaluk utilizou, em 2015, uma versão denominada BiliUFPR A.1, que foi desenvolvida através de um projeto de pesquisa de iniciação científica, também coordenado pelo Prof. Dr. Marlio J. do C. Bonfim, com intuito de examinar diversos recém nascidos do Hospital das Clínicas de Curitiba. Os resultados foram satisfatórios no entanto observaram-se valores divergentes/não concordantes o que motivou o aprimoramento desta versão. Além disto foi salientado pelas médicas de que seria interessante o desenvolvimento de um bilirrubinômetro cuja medição não necessitasse de contato físico, de modo a evitar possíveis contágios e contaminações ao recém-nascido.

A partir da análise estatística dos resultados do protótipo BiliUFPR V1.1, em 2016 desenvolveu-se o protótipo BiliUFPR V1.2. Nesta versão foram ajustados parâmetros de hardware e software. Posteriormente este protótipo foi submetido novamente a teste *in vivo*, no Hospital das Clínicas de Curitiba. O custo destes protótipos a nível de componentes ficou abaixo de R\$ 200,00, corroborando com a ideia inicial de se desenvolver um equipamento de baixo custo.



Figura 5 - BiliUFPR V1.1 e V1.2. Fonte: O autor.

1.2.2 BiliUFPR V2.0

Esta versão baseia-se na medição sem contato físico do equipamento com a pele, evitando contágio/infecção e possibilitando maior praticidade nas

medições em incubadores e locais físicos de difícil acesso. Assim a inovação desta pesquisa refere-se à determinação da concentração de bilirrubina sem contato físico, característica atualmente indisponível no mercado e de grande interesse por parte dos hospitais e clínicas.

1.3 Objetivo geral

- I) Aprimorar e avaliar a confiabilidade do bilirrubinômetro BiliUFPR versão 1.2 (com contato físico), desenvolvido pelo Departamento de Engenharia Elétrica e Departamento de Pediatria da UFPR, testado *in vivo*, na determinação da bilirrubina total através da análise espectral dos raios refletido da pele.
- II) Desenvolver e avaliar a confiabilidade o bilirrubinômetro BiliUFPR versão 2.0 (sem contato físico), desenvolvido pelo Departamento de Engenharia Elétrica e Departamento de Pediatria da UFPR, cujo princípio de funcionamento baseia-se na utilização de amplificadores lock-in e que coleta os dados sem contato físico.

1.4 Objetivos específicos

Os objetivos específicos serão divididos para cada protótipo, conforme descritos nos itens I) e II).

1.4.1 BiliUFPR versão 1.2 (medição com contato físico)

- a) Aprimorar circuito calibração de forma a corrigir os erros detectados na versão 1.1;
- b) Reestruturar firmware em que utilizou-se a função máquina de estados;

- c) Validar os resultados preliminares no ambiente de laboratório;
- d) Realizar análise estatística, a partir dos resultados fornecidos pelo Hospital das Clínicas de Curitiba.

1.4.2 BiliUFPR versão 2.0 (medição sem contato físico)

- a) Desenvolver sistema de medida com amplificador lock-in para eliminar ruídos oriundos do ambiente (luz ambiente, interferência eletromagnéticas e etc.) possibilitando a aquisição sem contato físico;
- b) Desenvolver firmware incluindo a rotina de lock-in;
- c) Validar os resultados preliminares no ambiente de laboratório;

1.5 Estrutura do trabalho

Este trabalho foi dividido em 5 capítulos, incluindo este capítulo introdutório, os quais serão explanados a seguir.

- a) O capítulo 2 explica o princípio geral de funcionamento do bilirrubinômetro e mostra como os principais equipamentos comerciáveis propõem o método para cálculo da concentração de bilirrubina. Também explica-se o funcionamento geral do BiliUFPR com utilização do algoritmo de aproximação sucessivas;
- b) O capítulo 3 detalha o histórico da versão 1 em que divide-se em V1.1 versão anterior ao projeto e V1.2 versão aprimorada. Neste capítulo são apresentadas validações laboratoriais (versão 1.2) e resultados estatísticos testes *in vivo*;

- c) O capítulo 4 é referente ao desenvolvimento da versão V2.0 cuja inovação consiste na medição sem contato físico com a pele. Serão apresentadas validações laboratoriais;
- d) Por fim, o capítulo 5 faz uma conclusão final desta pesquisa e a perspectiva para novos projetos.

2 Princípio de funcionamento do bilirrubinômetro

O bilirrubinômetro é um equipamento que consiste na utilização do método da espectrofotometria de refletância a qual envia um feixe de luz ao interior da pele e realiza a medição da intensidade das ondas refletidas pelos principais componentes da pele resultando na determinação da concentração de bilirrubina.

A Figura 6 exhibe a incidência dos raios emitidos na superfície externa da pele, denominada estrato córneo, que são refratados pela epiderme até a derme reticular onde estão presentes maior parte das moléculas de hemoglobina, bilirrubina e melanina.

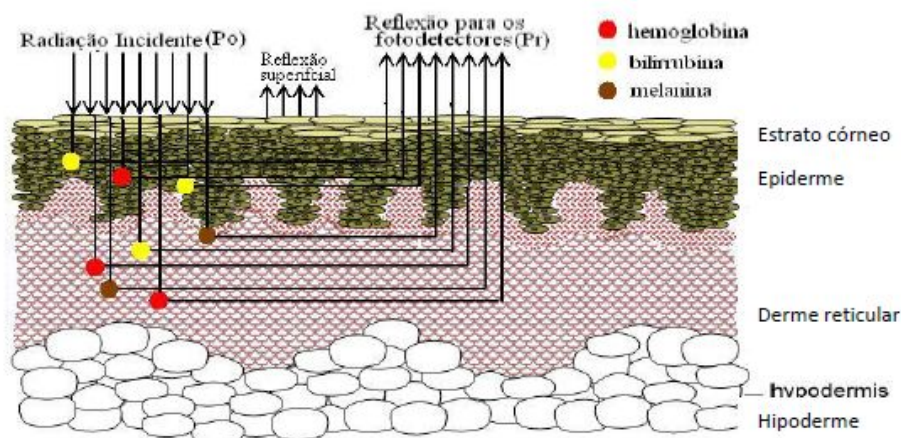


Figura 6 - Componentes envolvidos na reflexão do feixe luminoso (MAISELD; 2006)

O equipamento incide um feixe luminoso na pele, cuja reflexão é detectada por um fotodetector. Esta quantidade de luz detectada é analisada e correlacionada com a concentração de bilirrubina na derme, a qual é proporcional à absorção óptica da bilirrubina, de acordo com a Lei de Beer-Lambert.

Para compreender a Lei de Beer-Lambert é necessário revisar os conceitos de transmitância e absorvência. A transmitância luminosa (T) pode ser definida como a quantidade de luz que é transmitida quando um feixe de luz atravessa um meio. Matematicamente pode ser descrita pela razão entre a potência de entrada sobre a potência de saída.

Por outro lado, a absorvência (A) indica a quantidade de luz absorvida pelo meio e é descrita pela razão da potência de saída sobre a potência de entrada. As equações (1) e (2) exibem as relações matemáticas da transmitância e da absorvência respectivamente.

$$T = \log\left(\frac{P_i}{P_o}\right) \quad (1)$$

$$A = \log\left(\frac{P_o}{P_i}\right) \quad (2)$$

A lei de Beer enuncia que quando um feixe luminoso com determinada potência incidente P_i atravessa um material, a potência de saída P_o decresce exponencialmente de acordo com a concentração (C) e com o coeficiente de absorção do material (θ), conforme equação (3).

$$T = e^{-\alpha C} \quad (3)$$

A absorvência pode ser descrita, também, como:

$$A = \alpha \cdot l \cdot c \quad (4)$$

De maneira semelhante, a lei de Lambert afirma que a transmitância decresce exponencialmente com a espessura do meio (l) ao qual o feixe atravessa.

$$T = e^{-l} \quad (5)$$

Portanto, a lei de Beer-Lambert pode ser definida como uma relação empírica que relaciona a absorção da luz com as propriedades do material atravessado por esta, conforme equações (5), (6) e Figura 7. (AZEKA,2011).

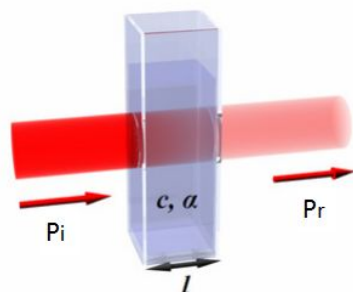


Figura 7 - Diagrama de absorção de um feixe de luz atravessando uma cubeta de tamanho l Fonte: (BHUTANI et al., 2000)

$$T = e^{-\lambda C} \quad (6)$$

2.1 Bilirrubinômetros comerciais

Embora o princípio básico de funcionamento dos bilirrubinômetros sejam regidos pela Lei de Beer-Lambert, cada equipamento apresenta uma particularidade na determinação da concentração da bilirrubina o que acarreta na utilização de diferentes componentes refletindo em custos distintos. Os itens 2.1.1 e 2.1.2 apresentam uma breve explicação para os bilirrubinômetros: Bilicheck, fabricado pela Philips e o JM-103 fabricante Minolta. A Figura 8 demonstra a utilização de um bilirrubinômetro na região frontal do RN.



Figura 8 - Utilização de bilirrubinômetro transcutâneo em recém-nascidos Fonte: (BHUTANI et al., 2000)

2.1.1 BiliCheck

O diagrama esquemático deste bilirrubinômetro é mostrado na Figura 9. O princípio de detecção utiliza todo o espectro de luz visível (380 à 760nm) refletido pela pele. A radiação é emitida através de uma lâmpada de tungstênio halógena (fonte de luz). A luz branca é transmitida, através de fibras ópticas, para a pele e a luz refletida é coletada para análise. Foram desenvolvidos algoritmos para considerar o efeito da hemoglobina, melanina e a espessura da derme. A absorção da luz azul devido à bilirrubina na camada capilar e no tecido subcutâneo é isolada através da subtração espectral. É requerido que a cada medição realiza-se a calibração de forma a tornar a medida fidedigna. (RUBALTELLI; GOURLEY; LOSKAMP, 2001)

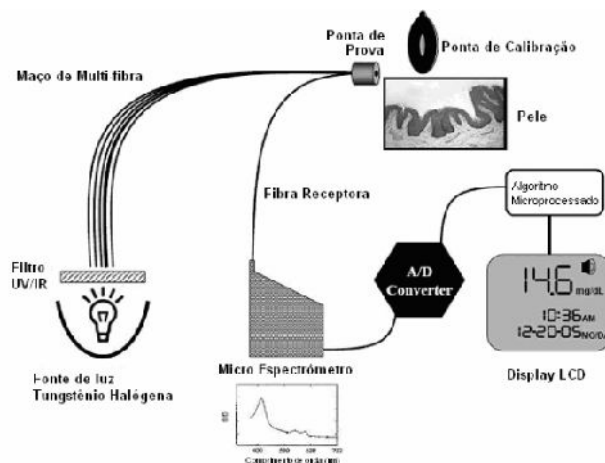


Figura 9 - Diagrama esquemático do equipamento Bilicheck. Fonte (MAISELD; 2006)

2.1.2 Minolta

O Minolta, ou também denominado JM-103, utiliza somente dois comprimentos de onda e um sistema de dois caminhos ópticos (YASUDA; ITOH; ISOBE, 2003). O princípio de operação inclui a formação de dois feixes, um que penetra apenas nas áreas superficiais do tecido subcutâneo, enquanto que a outra alcança camadas mais profundas, conforme Figura 10. A refletância espectral da bilirrubina é medida pela determinação da diferença das densidades ópticas para as regiões com comprimento de onda da luz azul (450nm) e verde (550nm). (SANPAVAT, 2004).

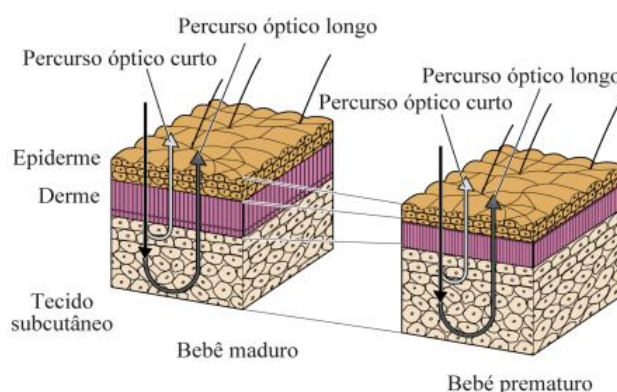


Figura 10 - Caminhos ópticos percorridos pelos feixes do JM-103. Fonte: (MAISELS, 2006)

A medida da bilirrubina é realizada colocando-se o transdutor de fibra óptica em contato com a região esternal do recém-nascido, devendo ser aplicada

uma leve pressão para garantir o contato do transdutor com a pele (SANPAVAT, 2004).

2.2 BiliUFPR

O princípio de operação do BiliUFPR se baseia na análise de quatro comprimentos de onda: 470 nm, 530 nm, 600 nm e 650 nm que são fornecidos a partir dos LEDs azul, verde, laranja e vermelho respectivamente. Estes são interligados com um circuito de comando o qual é operado por um micro controlador MSP430G2553. Os feixes luminosos emitidos pelos LEDs são refletidos pela derme e detectados pelo fototransistor. Após realizados os cálculos, a concentração de bilirrubina é exibida no display. A Figura 11 exibe um diagrama simplificado de operação do BiliUFPR no momento em que o LED azul está ligado.

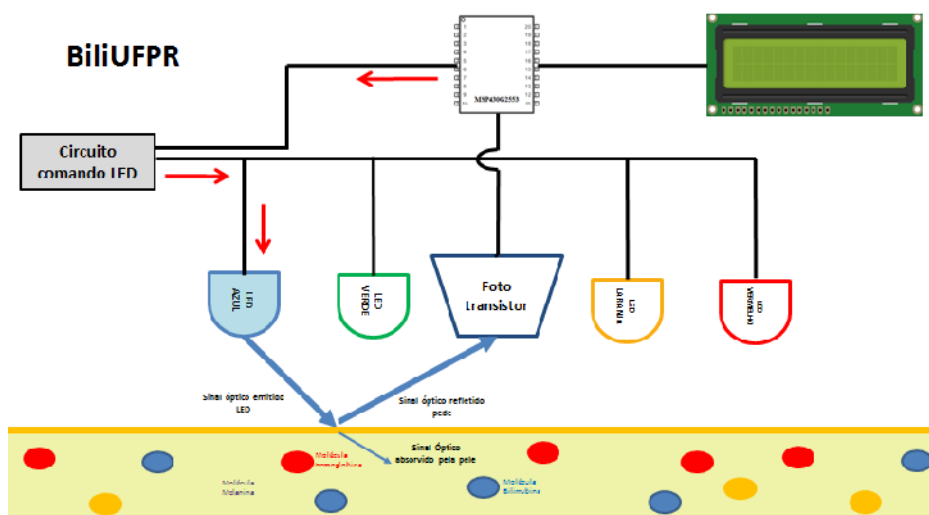


Figura 11 - Diagrama simplificador de operação do BiliUFPR. Fonte: O Autor

Posteriormente os demais LEDs serão acionados individualmente para completar todo o processo iterativo.

Segundo a lei de Beer-Lambert a concentração da bilirrubina pode ser obtida através da relação entre absorvência e de características intrínsecas da molécula. A Figura 12 exibe o comportamento da absorvência dos componentes da derme (bilirrubina, hemoglobina e melanina) envolvidos no processo de reflexão ao longo do comprimento de onda.

O fototransistor é o sensor óptico responsável por detectar a parcela de luz refletida pela derme em cada um dos quatro comprimentos de onda utilizados. Esta detecção é feita em tempos distintos, sincronizada com o acionamento de cada um dos LEDs.

Desta forma, ao final deste processo, tem-se as refletâncias individuais da derme para cada comprimento de onda utilizado.

Vale salientar que no nosso trabalho foi dado especial tratamento ao pigmento melanina, devido à grande diversidade de cores e raças no Brasil. A grande maioria dos bilirrubinômetros comerciais não aborda claramente este aspecto, tendo em vista que foram desenvolvidos em países onde a miscigenação da população não é tão marcante (AZEKA, 2011).

Nota-se que a bilirrubina apresenta um pico de absorção no comprimento de onda de 470nm, no entanto neste ponto também existem as contribuições das moléculas de melanina e hemoglobina.

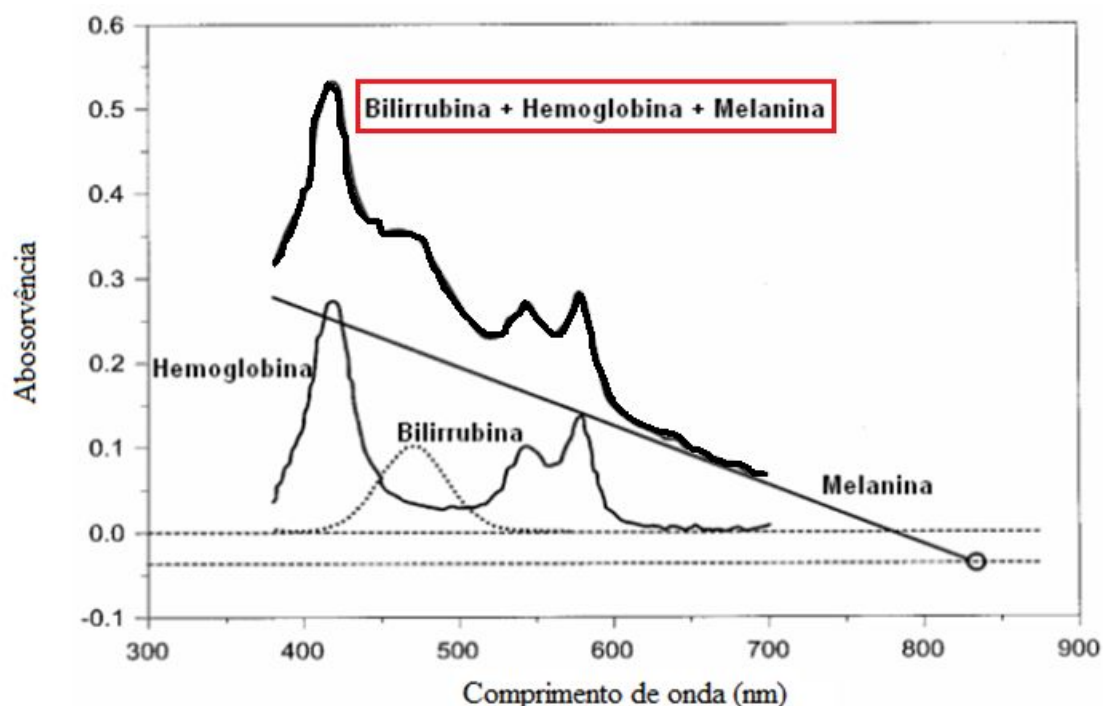


Figura 12 - Absorvência de luz da bilirrubina e hemoglobina somada com o efeito da absorção da melanina. Fonte: (BHUTANI et al., 2000)

Portanto deve-se subtrair as absorvências das moléculas de hemoglobina e melanina para obter a absorvência da bilirrubina em 470nm. Para isto, serão necessárias quatro etapas. Na primeira etapa é determinada a absorvência total

em 470nm, utilizando-se o LED azul. A segunda e terceira etapas têm o objetivo de encontrar a equação de uma reta que descreve a absorvência da melanina em toda faixa espectral de interesse. Foram escolhidos os comprimentos de onda 600 nm (LED laranja) e 650 nm (LED vermelho), tendo em vista que nesta região as contribuições da bilirrubina e hemoglobina são desprezíveis. Na quarta etapa é determinada a absorvência do conjunto hemoglobina+melanina em 530 nm, tendo em vista que neste comprimento de onda a hemoglobina possui coincidentemente a mesma absorvência que em 470 nm. Além disto, em 530 nm a absorvência da bilirrubina é desprezível. A Figura 13 exhibe o processo da primeira etapa.

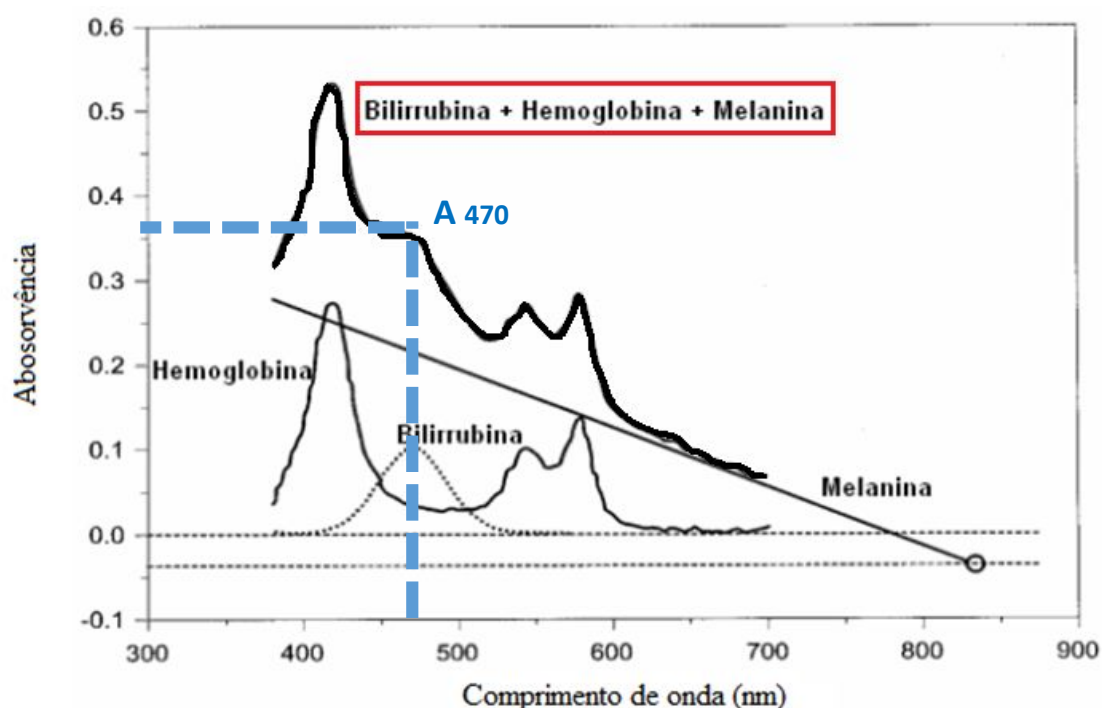


Figura 13 - Gráfico absorção componentes derme - Led azul. Fonte: (BHUTANI et al., 2000)

Desta forma, tem-se que:

$$A_{470} = A_{Bi\ 470} + A_{Hg\ 470} + A_{Ml\ 470} \quad (7)$$

Observa-se que a absorvência da molécula de melanina decresce linearmente com o aumento do comprimento de onda. Assim, é possível determinar a equação da reta que rege este fenômeno. A segunda etapa consiste no acionamento individual do LED laranja (600nm) para obtenção do ponto A., conforme ilustrado na Figura 14.

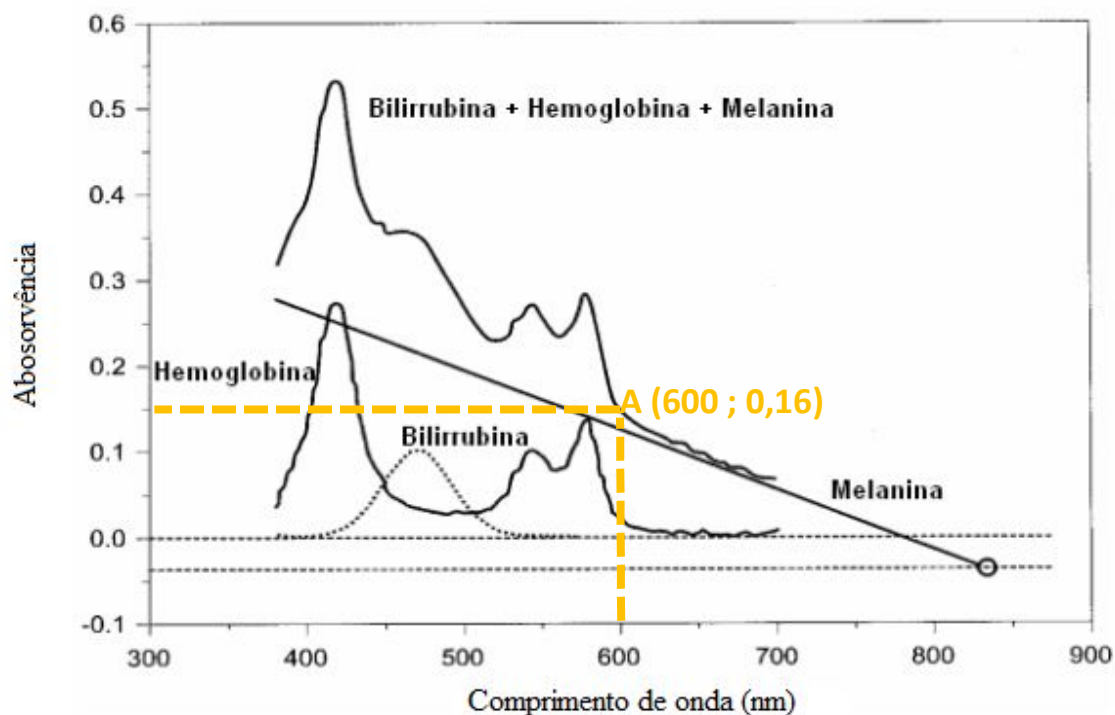


Figura 14 - - Gráfico absorção componentes derme - Led laranja. Fonte: (BHUTANI et al., 2000)

Posteriormente aciona-se somente o LED vermelho (650nm) para obtenção do ponto B, conforme exibe a Figura 15.

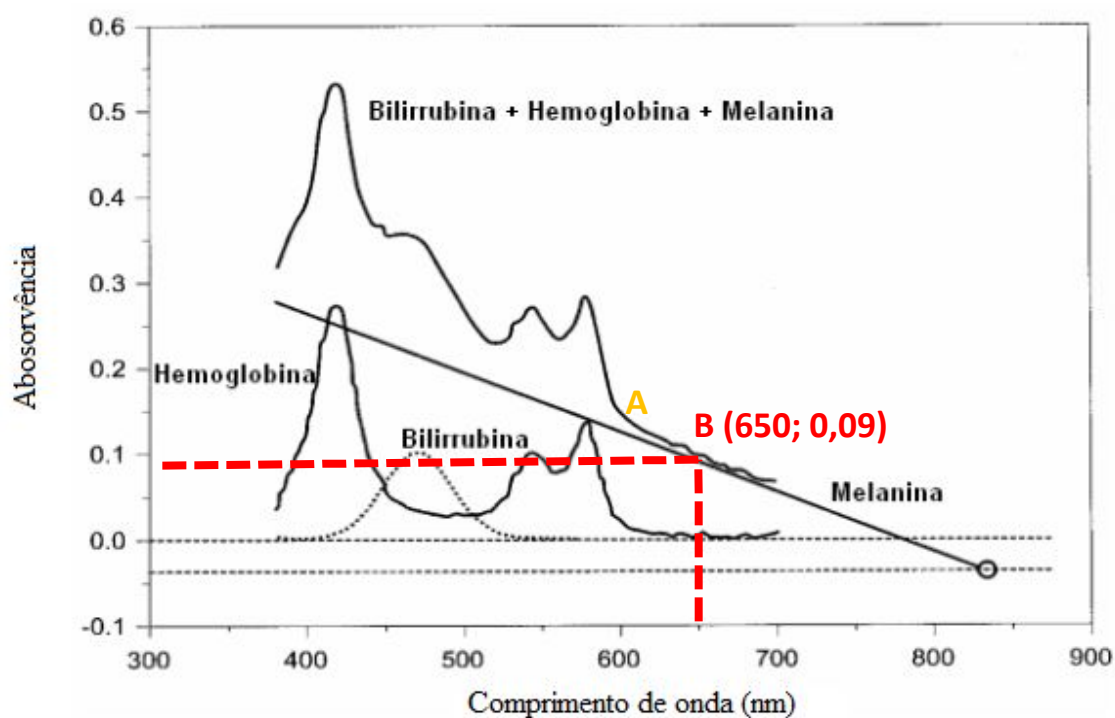


Figura 15 - - Gráfico absorção componentes derme - Led vermelho. Fonte: (BHUTANI et al., 2000)

Em ambos os pontos A e B existe praticamente apenas a influência da molécula de melanina, portanto pode-se afirmar que o sinal detectado pelo fototransistor refere-se somente à molécula de melanina. Assim, é possível determinar a equação da reta em função do comprimento de onda (λ).

$$y - y_o = m_r(x - x_o) \quad (8)$$

$$A_{Ml}(\lambda) = m_r(\lambda - x_o) + y_o \quad (9)$$

Escolhendo o ponto B para definição da reta da melanina, tem-se:

$$A_{Ml}(\lambda) = \frac{A_{650} - A_{600}}{650 - 600} (\lambda - 650) + A_{650} \quad (10)$$

$$A_{Ml}(\lambda) = \frac{A_{650} - A_{600}}{50} (\lambda - 650) + A_{650} \quad (11)$$

A partir da equação (11) pode-se obter a absorvência da molécula de melanina em qualquer comprimento de onda.

Finalmente, a quarta etapa utiliza somente o LED verde com comprimento de onda 530nm. Percebe-se que neste ponto a absorvência da hemoglobina é igual em 470nm, conforme Figura 16.

$$A_{Hg(530)} = A_{Hg(470)} \quad (12)$$

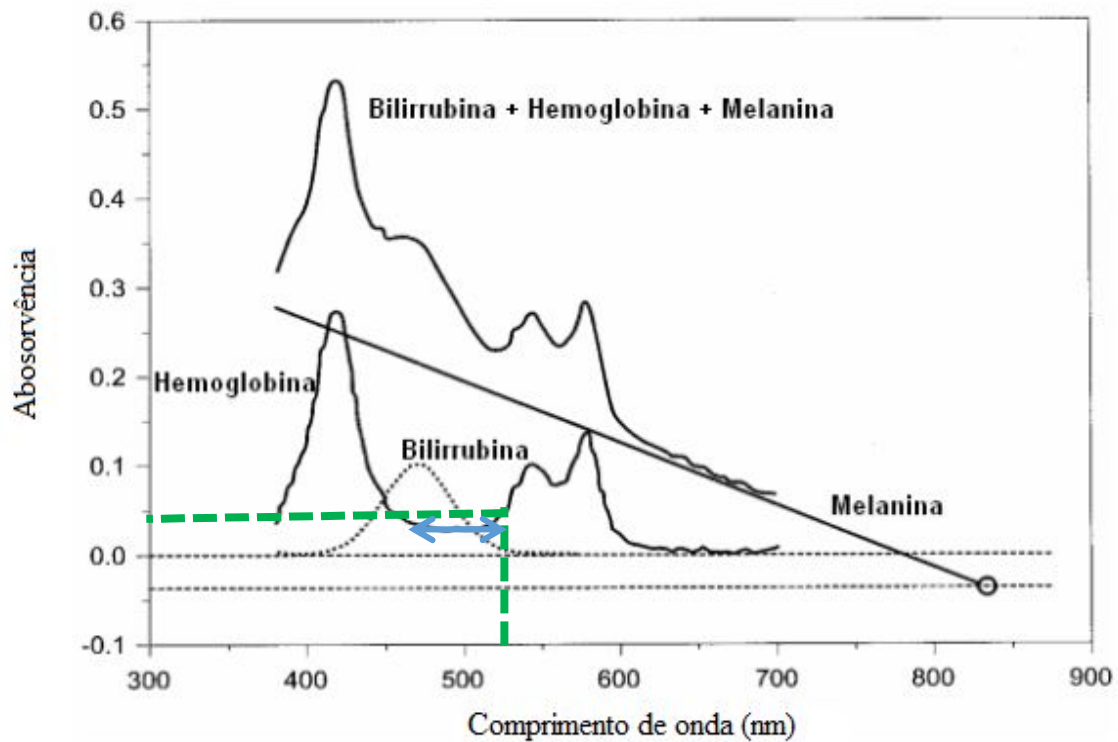


Figura 16 - - Gráfico absorção componentes derme - Led verde. Fonte: (BHUTANI et al., 2000)

No comprimento de onda de 530nm existem as contribuições da hemoglobina e melanina. Assim pode-se descrever:

$$A_{Bi(530)} = 0 \quad (13)$$

$$A_{Hg(530)} = A_{T(530)} - A_{Ml(530)} \quad (14)$$

Através da equação (11) pode-se determinar a absorvência da molécula de melanina no comprimento de onda de 530nm.

Após concluída as quatro etapas, os dados são enviados ao micro controlador MSP430G2553 onde são efetuados os seguintes cálculos:

$$A_{Bi\ 470} = A_{T\ 470} - A_{Hg\ 470} - A_{Ml\ 470} \quad (15)$$

$$A_{Bi\ 470} = A_{T\ 470} - A_{Hg\ 530} - A_{Ml\ 470} \quad (16)$$

$$A_{Hg\ 530} = A_{T\ 530} - A_{Ml\ 530} \quad (17)$$

$$A_{Bi\ 470} = A_{T\ 470} - (A_{T\ 530} - A_{Ml\ 530}) - A_{Ml\ 470} \quad (18)$$

$$A_{Bi\ 470} = A_{T\ 470} - A_{T\ 530} + A_{Ml\ 530} - A_{Ml\ 470} \quad (19)$$

Através da utilização da equação da reta da molécula de melanina, pode-se obter os valores de $A_{Ml\ 530}$ e $A_{Ml\ 470}$ em função das absorvências totais.

$$A_{Ml}(470) = \frac{A_{T650} - A_{T600}}{50} (470 - 650) + A_{T650} \quad (20)$$

$$A_{Ml}(470) = \frac{A_{T650} - A_{T600}}{50} (-180) + A_{T650} \quad (21)$$

$$A_{Ml}(470) = -3.6(A_{T650} - A_{T600}) + A_{T650} \quad (22)$$

$$A_{Ml}(470) = 3.6A_{T600} - 2.6A_{T650} \quad (23)$$

Da mesma maneira pode-se determinar a absorvência da melanina no comprimento de onda de 530nm, conforme segue:

$$A_{Ml}(530) = \frac{A_{T650} - A_{T600}}{50} (530 - 650) + A_{T650} \quad (24)$$

$$A_{Ml}(530) = \frac{A_{T650} - A_{T600}}{50} (-120) + A_{T650} \quad (25)$$

$$A_{Ml}(530) = -2.4(A_{T650} - A_{T600}) + A_{T650} \quad (26)$$

$$A_{Ml}(530) = 2.4A_{T600} - 1.4A_{T650} \quad (27)$$

Assim a nova equação da absorvência da concentração de bilirrubina escrita em termos das absorvências totais é:

$$A_{Bi\ 470} = A_{T\ 470} - A_{T\ 530} + 2.4A_{600} - 1.4A_{650} - (3.6A_{600} - 2.6A_{650}) \quad (28)$$

$$A_{Bi\ 470} = A_{T\ 470} - A_{T\ 530} - 1.2A_{T600} + 1.2A_{T650} \quad (29)$$

Aplicando a lei de Beer-Lambert pode-se descrever a absorvência em função das potências refletidas e incidentes.

$$A_{Bi\ 470} = \log \frac{P_{R470}}{P_{i470}} - \log \frac{P_{R530}}{P_{i530}} - 1,2. \left[\log \frac{P_{R600}}{P_{i600}} - \log \frac{P_{R650}}{P_{i650}} \right] \quad (30)$$

Na rotina de calibração foram normalizadas as potências incidentes quando incidiu-se os LEDs numa superfície branca, assumindo o valor máximo de 3 500u.m. Portanto:

$$A_{Bi\ 470} = \log \frac{P_{R470}}{3500} - \log \frac{P_{R530}}{3500} - 1,2. \left[\log \frac{P_{R600}}{3500} - \log \frac{P_{R650}}{3500} \right] \quad (31)$$

Escrevendo a absorvência da bilirrubina em função do coeficiente de absorção e espessura da derme:

$$\alpha.l.C_{Bi} = \log \frac{P_{R470}}{3500} - \log \frac{P_{R530}}{3500} - 1,2. \left[\log \frac{P_{R600}}{3500} - \log \frac{P_{R650}}{3500} \right] \quad (32)$$

A espessura da derme penetrada pelo feixe luminosa e o coeficiente de absorção são constantes.

$$K = \frac{1}{\alpha l} \quad (33)$$

Sendo assim, a fórmula para determinar a concentração de bilirrubina em função das potências ópticas refletidas totais é:

$$C_{Bi} = K. \left[\log P_{R470} - \log P_{R530} + 1,2. \log P_{R650} - 1,2. \log P_{R600} \right] \quad (34)$$

A potência refletida é detectada pelo fototransistor e enviado ao micro controlador. O fototransistor utilizado para leitura dos raios refletidos pela superfície da pele é o modelo SFH300 cujo fabricante é OSRAM Opto Semicondutores, conforme exibido na Figura 17.



Figura 17 - Foto do fototransistor SFH300. Fonte: (site: OSRAM-OS)

A Figura 18 ilustra a sensibilidade espectral relativa deste fototransistor.

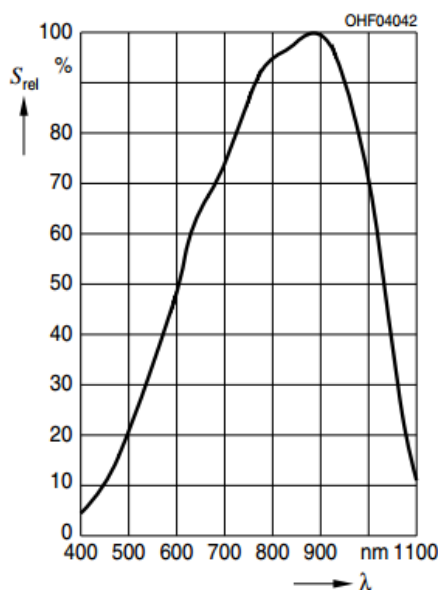


Figura 18 - Gráfico da sensibilidade espectral relativa fototransistor SFH300.
Fonte: (site: OSRAM-OS)

Nota-se que a sensibilidade espectral do fototransistor é função do comprimento de onda. Como são utilizados LEDs de cores distintas, a resposta em corrente da saída do fototransistor será função da cor do LED. A rotina de calibração normaliza estas diferenças tornando a potência incidente congruente para todas as cores.

2.2.1 Calibração por algoritmo de aproximação sucessiva

A partir do BiliUFPR V1.1 foi utilizado o microcontrolador MSP430G2553, fabricado pela Texas Instruments, que apresenta arquitetura RISC (com tempo de instrução de 6.2ns por instrução), 16kB de memória flash, 2 temporizadores de 16 bits e 20 pinos de entrada e saída. A principal vantagem deste microcontrolador é o baixo consumo de energia e baixo custo. No entanto este microcontrolador não possui um conversor D/A o que implica na utilização de modulação PWM associado a um filtro passa-baixas, necessário para executar a rotina de calibração. Foi utilizado um PWM com resolução de 10 bits (contagem de 0 até 1023) com frequência de 16 kHz e um filtro passa-baixa de segunda ordem com frequência de corte de 200Hz.

Nas versões pionerias do BiliUFPR a rotina de calibração era executada por uma aproximação linear. Nesta aproximação o processo de calibração exigia uma rotina cujo incremento do PWM era realizado passo a passo de 0 até 1023 acarretando em um elevado tempo de processamento. Nas versões BiliUFPR V1.2 e V2.0 alterou-se para o algoritmo de aproximação sucessiva o que resulta numa redução de 99% pois esta aproximação é realizada em apenas 10 iterações. Este processo consiste na formação de um vetor em que os bits são preenchidos com “1” ou “0”, conforme mostrado na Figura 19.

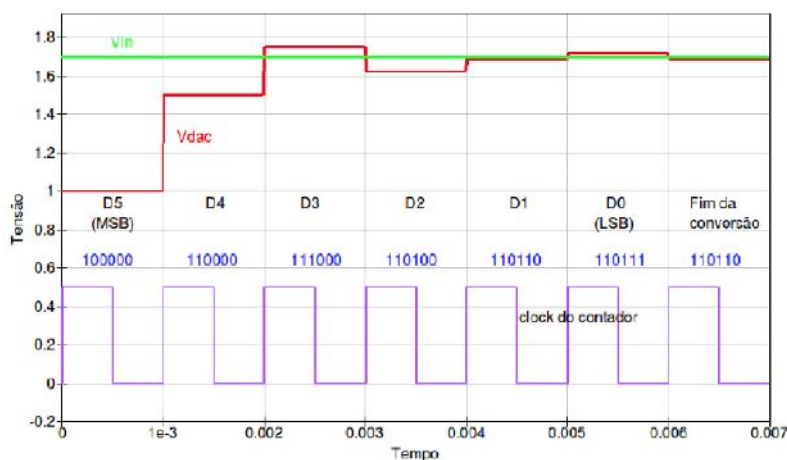


Figura 19 - Processo iterativo de aproximações sucessivas. Fonte: notas de aulas da disciplina TE149 do Prof. Dr. Marlio J. C. Bonfim.

A Figura 19 exemplifica graficamente um algoritmo de aproximação sucessiva com 6 bits de resolução. Note que no primeiro passo da iteração o vetor apresenta o valor binário de 100000 e o valor Vdac (linha vermelha) está bem abaixo da linha verde (tensão a ser alcançada), sendo assim o bit adjacente é acionado, permanecendo o anterior. Portanto no segundo passo da iteração tem-se o o valor digital 110000 e ainda assim não foi suficiente para alcançar a tensão desejada. Diante disto acionou-se o bit seguinte obtendo-se 111000 no entanto isto refletiu na ultrapassagem da tensão desejada, portanto desativou-se este bit e acionou-se o seguinte cujo valor é inferior, assim tem-se 110100. Este processo continuará até que se preencham os bits do vetor. Este processo é utilizado na rotina de calibração do bilirrubinômetro de forma a determinar qual o valor de corrente para cada LED que resulte na mesma tensão lida pelo fototransistor.

Ao final da rotina de calibração será armazenado o valor do PWM correspondente para cada um dos LEDs. Estes valores de PWM, que possuem uma correlação com a corrente de polarização de cada um dos LEDs, são alocados em vetores os quais serão utilizados para realizar a medição da concentração de bilirrubina. A Figura 20 exemplifica os dois primeiros passos do processo, no entanto é válido salientar que para uma mesma cor são executadas 64 medições e calculado o valor médio de forma a melhorar a precisão das medidas.

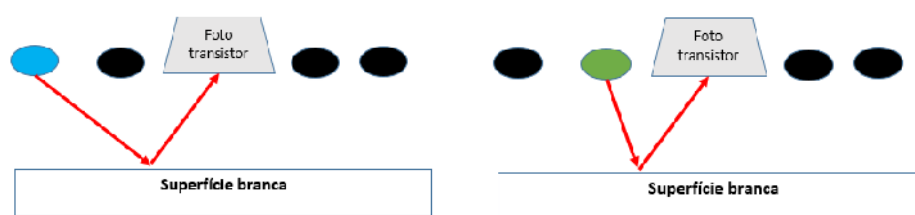


Figura 20 - Calibração passo 1: LED Azul ligado e demais desligados. Calibração passo 2: LED verde ligado e demais desligados Fonte: O autor.

3 Análise de dados do BiliUFPR versão 1

O bilirrubiometro versão 1 pode ser dividido em duas sub versões: BiliUFPR V1.1 e BiliUFPR V1.2. A diferença entre estas versões refere-se a modificação de software e substituição de componentes internos, ou seja, o aspecto construtivo permaneceu inalterado.

3.1 BiliUFPR V1.1

Esta versão foi disponibilizada ao Hospital das Clínicas de Curitiba no período de 2014 e 2015, aos cuidados da médica Patrícia Povaluk – aluna de Mestrado em Medicina pela Universidade Federal do Paraná, em que foram coletadas 108 amostras de recém nascidos com a utilização deste protótipo e comparadas com a medição sérica (sanguínea).

3.1.1 Análise estatística BiliUFPR V1.1 – Resultado teste *in vivo*

Para fazer esta análise estatística utilizou-se o coeficiente de Pearson que mede o grau da correlação entre duas variáveis (PEARSON, 1895). A Tabela 1 demonstra os intervalos ao passo que quanto maior este coeficiente, mais forte será a correlação. (TANJA, 2009)

Tabela 1 – Intervalos de correlação de Pearson. Fonte: (TANJA, 2009)

Coeficiente Pearson	Grau correlação
0.80 – 1.0	Muito forte
0.60 - 0.79	Forte
0.40 - 0.59	Moderada
0.10 - 0.39	Fraca
0 - 0.19	muito fraca

A Figura 21 ilustra um gráfico de dispersão em que na abcissa encontram-se os valores medidos com o BiliUFPR V1.1 e nas ordenadas a medição sérica. Observa-se que o coeficiente de Person apresentou valor de 0.41 ou seja, correlação moderada.

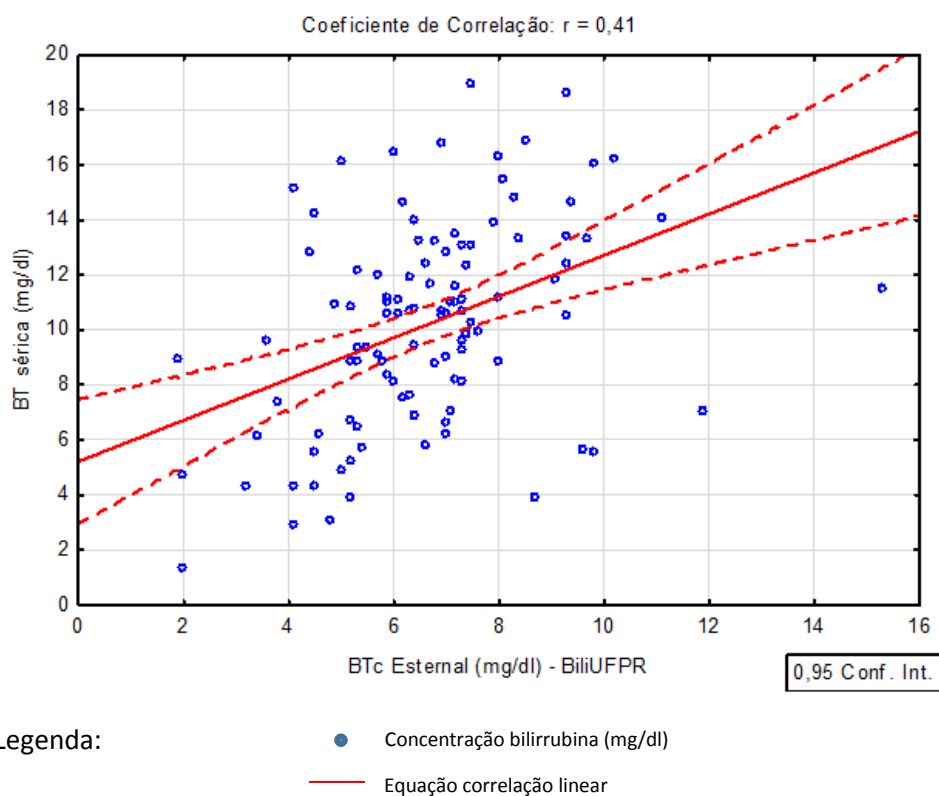


Figura 21- Correlação entre a bilirrubina sérica e a BiliUFPR V1.1 Fonte: O autor.

3.2 BiliUFPR V1.2

Esta versão foi aprimorada durante este trabalho de mestrado com o intuito de melhorar a correlação/acurácia da medição da concentração de bilirrubina, no entanto manteve-se o contato físico como requisito para medição.

3.2.1 Hardware

Identificou-se uma saturação no LED verde que impossibilitava o funcionamento correto do processo de calibração. Esta saturação foi corrigida alterando-se resistores do circuito ao passo que verificou-se o correto funcionamento no laboratório.

3.2.2 Software

Utilizou-se a plataforma IAR, com linguagem C, para programar as rotinas do microcontrolador. De forma a tornar mais didático o entendimento das linhas de programação, elaborou-se um fluxograma, conforme exibido na Figura 22.

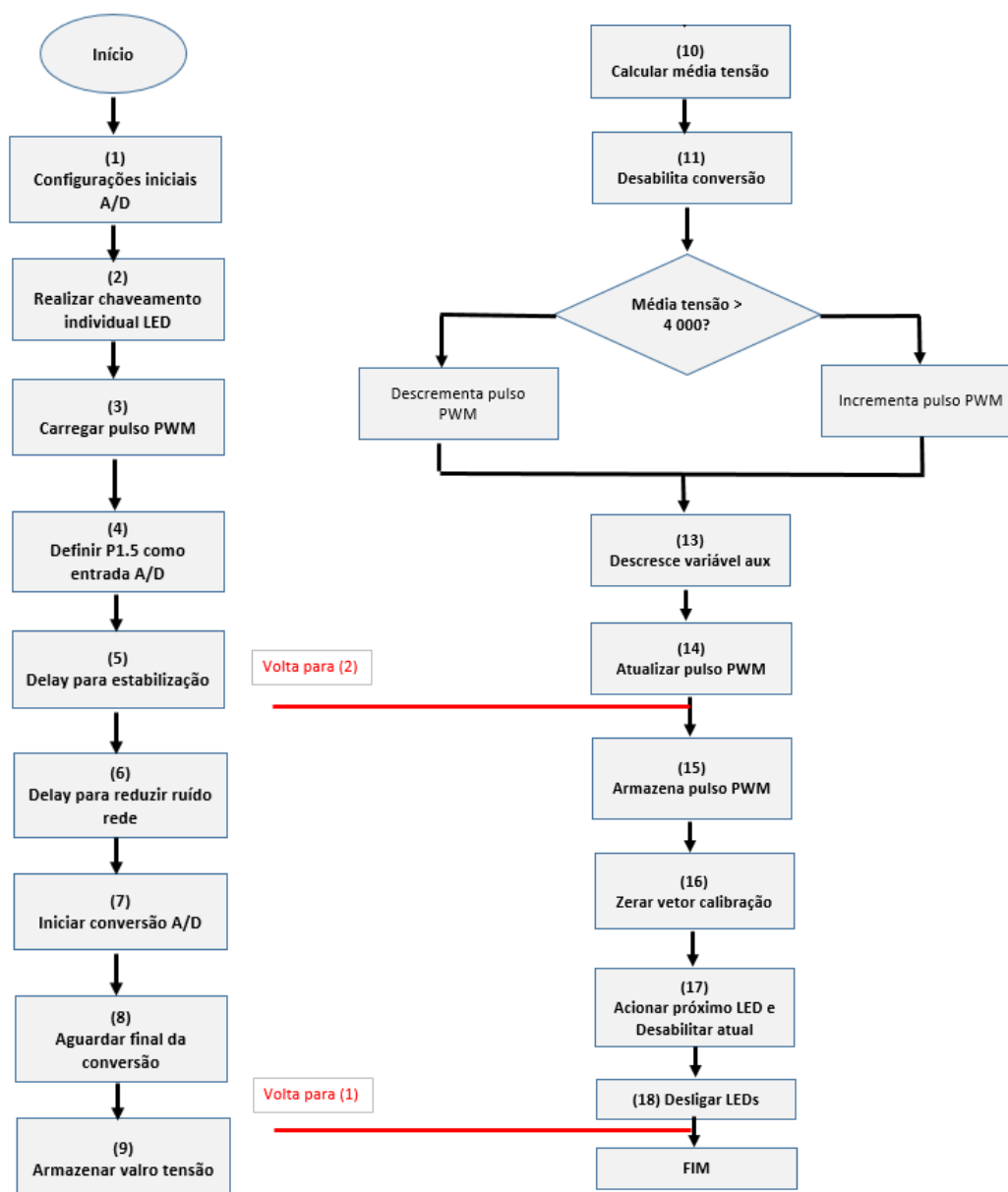


Figura 22 - Fluxograma BiliUFPR versão V1.2. Fonte: O autor.

A partir da análise estatística dos dados coletados com a versão BiliUFPRV1.1, alterou-se a constante K3 com intuito de corrigir a fórmula de concentração da bilirubina.

3.2.3 Validação laboratorial

Antes de disponibilizar este protótipo ao Hospital das Clínicas de Curitiba (HC) realizaram-se avaliações internas da rotina de calibração e medições em superfícies brancas e pretas de forma a validar o funcionamento do sistema. Com a utilização do osciloscópio digital modelo MSO-X 3024A fabricado pela Agilent Technologies foi possível obter as formas de onda das rotinas de calibração e medição.

a) Rotina de calibração

Utilizou-se uma superfície branca para realizar a calibração do sistema. A Figura 23 ilustra o processo iterativo para cada LED em que a linha amarela representa os pulsos enviados para o circuito de calibração seguindo o algoritmo de aproximações sucessivas e a linha verde representa o valor de tensão detectada pelo fototransistor. Ao final da calibração de cada LED a tensão lida pelo fototransistor será igual para todas as cores, conforme indicam as flechas coloridas, exibidas na Figura 23, que representam a calibração de cada uma das cores dos LEDs.



Figura 23 - Forma de onda da rotina de calibração. Fonte: O autor.

b) Rotina de medição

Após executada a rotina de calibração, são armazenados os valores digitais do PWM utilizados para cada cor que são convertidos em corrente elétrica após

passagem pelo filtro passa-baixa. Com intuito de comprovar o funcionamento desta rotina, espera-se que quando o feixe luminoso, composto pelas quatro cores, incidir numa superfície preta o fototransistor indique uma pequena variação de tensão e da mesma maneira quando os utilizar numa superfície branca, todas as cores acusem uma grande variação de tensão, conforme Figura 24 e Figura 25

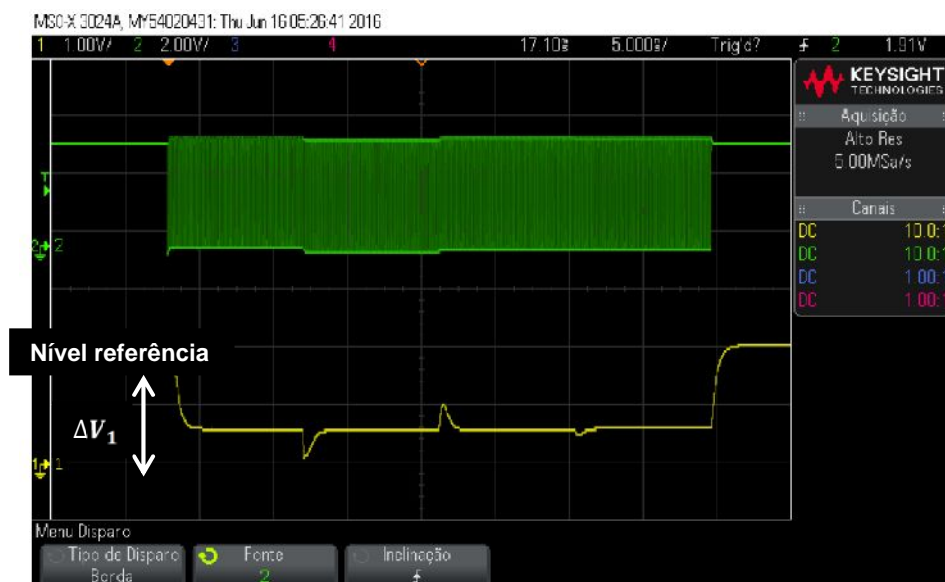


Figura 24 - Valores de tensão na superfície branca. Fonte: O autor.

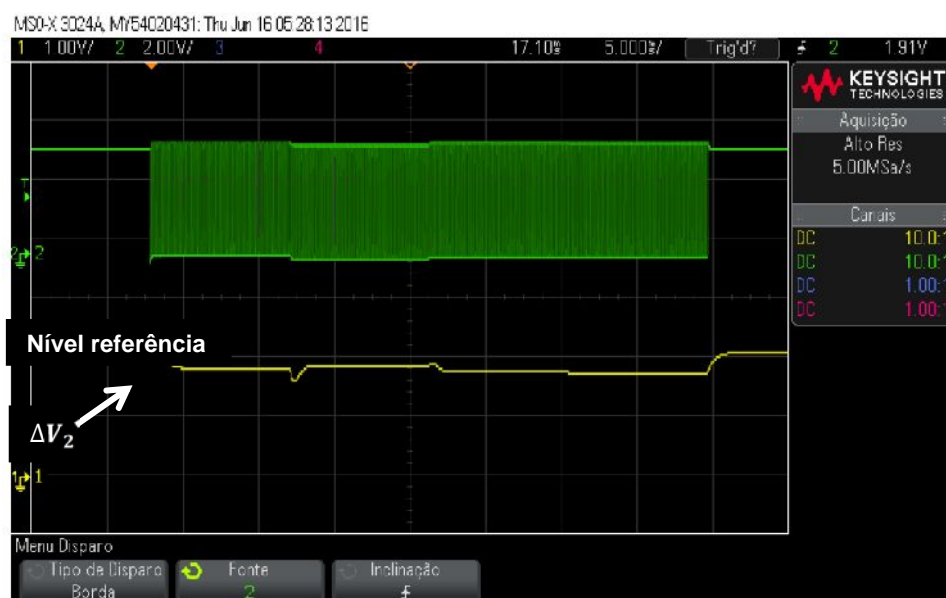


Figura 25 - Valores de tensão na superfície preta. Fonte: O autor.

As linhas verdes das Figuras 19 e 20 indicam a modulação PWM do circuito e as linhas amarelas indicam o valor de tensão lido pelo foto transistor em que pode-se observar que a variação de tensão ΔV_1 , originado a partir da superfície

branca, é superior à variação ΔV_2 da superfície preta. É importante salientar que entre as trocas de cores dos LED existe um transistório. Para garantir que a medida seja realizada em regime permanente é incluído um atraso de 5ms na rotina de leitura. Portanto, baseado nestas comprovações validou-se o funcionamento do protótipo biliUFPR versão 1.2 o que permitiu disponibiliza-lo para testes *in vivo* no HC.

3.2.4 Análise estatística BiliUFPR V1.2 – Resultados *in vivo*

Durante o ano de 2016 foram coletadas 290 medições, dos recém nascidos no Hospital das Clínicas de Curitiba, utilizando o bilirubinômetro JM-103, fabricado pela Minolta, e BiliUFPR V1.2. A Figura 26 ilustra um gráfico de dispersão em que o coeficiente de Person apresentou valor de 0.66 que apresenta uma correlação forte, conforme indicado na Tabela 1.

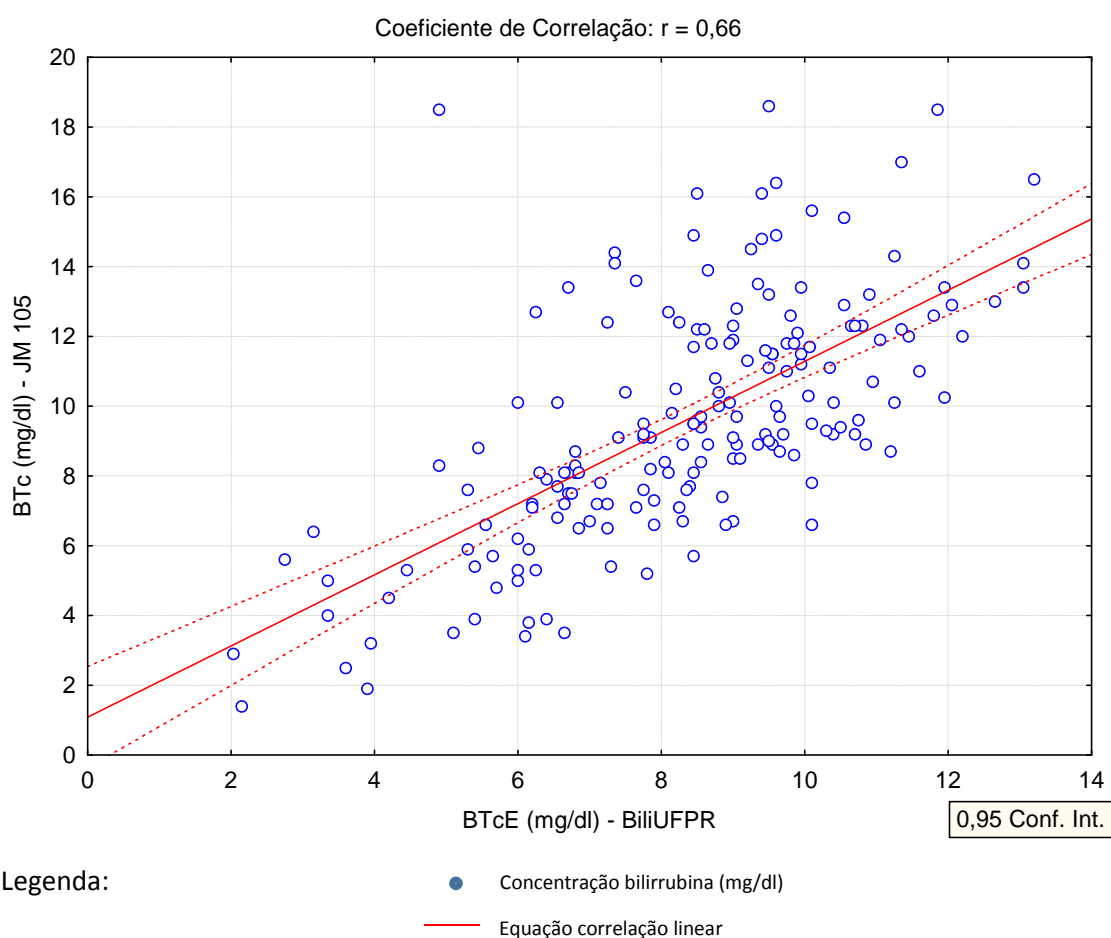


Figura 26 - Correlação entre a medição realizada com BiliUFPR com a medição realizada pelo JM-103. Fonte: O autor.

Além da correlação de Pearson, existe a análise do gráfico de Bland-Altman (DAVIDE, 2015) que mensura o grau de concordância entre dois métodos, um considerado referência e outro a ser avaliado. No eixo da abcissa dispõem-se as médias de ambas as medidas e no eixo das ordenadas encontram-se a diferença entre as medidas. Neste gráfico existem três linhas, a central que representa a média das diferenças entre as medidas de cada método e as linhas inferior e superior que indicam os limites de tolerância. (POVALUK,2011).

Para avaliação desta versão, considerou-se o bilirubinômetro JM-103 como equipamento padrão e comparou-se com o BiliUFPR V1.12, conforme a Figura 27 que exhibe o gráfico de Bland-Altman.

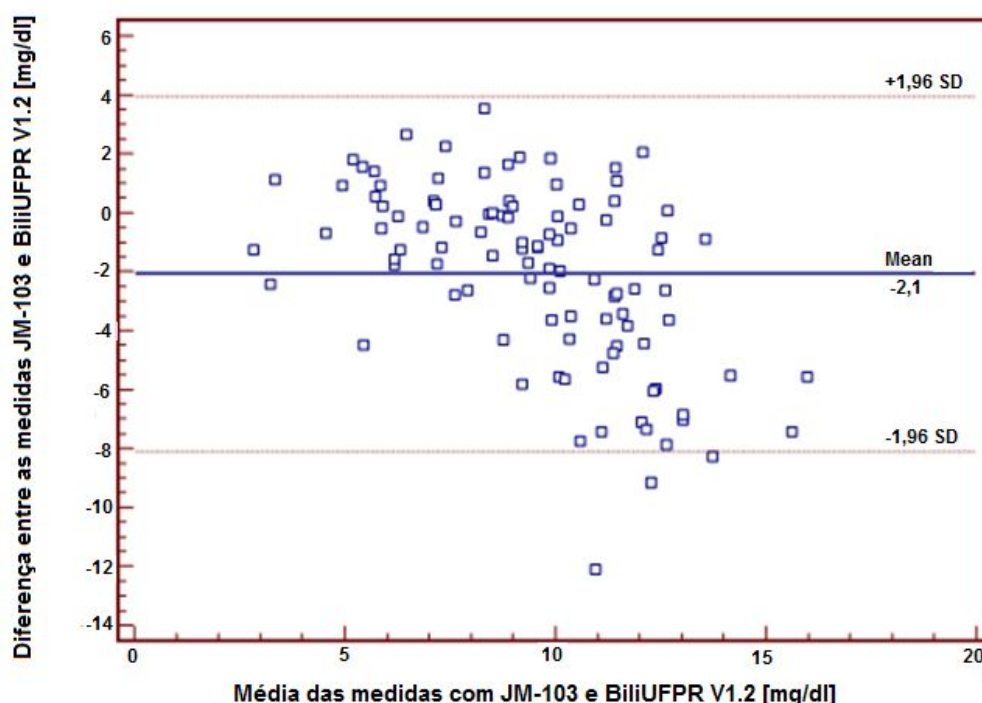


Figura 27 - Bland-Altman - Diferença entre as medidas da concentração de bilirrubina dos bilirubinômetros BiliUFPR V1.2 e JM-103. Fonte: O autor.

Portanto esta análise sugere uma concordância satisfatória ao passo que o somatório das médias das diferenças foi de aproximadamente -2.1 dg/ml com a maioria dos valores na de região de aceitação.

3.3 Conclusões parciais

Através da análise de Pearson pode-se afirmar que a versão BiliUFPR V1.2 apresentou uma grande evolução na confiabilidade das medidas refletindo no acréscimo do coeficiente correlação de Pearson de 0.41 para 0.66, ou seja, uma correlação considerada forte, de acordo com Tanja (2009). Isto pode ser explicado através da correção da saturação do LED verde (hardware) e aprimoramento da equação do cálculo de concentração da bilirubina (software).

Jayaram (2017) efetuou a análise comparativa entre medição sérica e o bilirrubinômetro JM-105 (Drager) e encontrou um coeficiente de correlação de Pearson médio de 0.67, bastante similar ao que foi obtido com a versão 1.2.

4 Protótipo BiliUFPR versão 2

Conforme proposto no início do projeto, a principal inovação desta pesquisa consiste na aquisição dos dados sem contato físico, de forma a evitar infecções e contágio além de facilitar as medições em ambientes mais restritos (eclusas de recém nascidos na UTI). É válido salientar de que esta medição sem contanto com a derme é uma característica inovadora tendo em vista que, ao nosso conhecimento, não existe bilirrubinômetro comercial nem divulgado no meio científico, até o momento, que possua medição sem contato físico com a pele do RN. O principal desafio da aquisição remota dos dados é a presença da luz ambiente, cuja contribuição irá se somar à luz utilizada na medida, causando interferências e degradação dos resultados. Portanto, faz-se necessário a utilização de uma técnica de filtragem dos ruídos provenientes do ambiente. Devido ao caráter de baixo custo proposto no desenvolvimento do bilirrubinômetro BiliUFPR optou-se, dentre as técnicas de redução de ruído (PROBST, PIERRE, JAQUIER, 1994) por uma abordagem da detecção baseada no amplificador lock-in a qual foi desenvolvida durante este projeto e que pode ser utilizada em diversas aplicações.

4.1 Amplificador lock-in

A detecção sensível à fase (PSD) é uma técnica de laboratório bastante utilizada para extrair sinais de uma condição de sinal / ruído (SNR) muito baixa. Desenvolvido na década de 1960, tornou-se uma técnica experimental muito utilizada e o amplificador lock-in é um instrumento que torna este método possível (SCOTT, 2002). Basicamente, a detecção sensível à fase refere-se à demodulação de um sinal AC por um circuito que é controlado por uma forma de onda de referência derivada do dispositivo que causou a modulação do sinal. O detector sensível à fase responde eficazmente a sinais que são coerentes (mesma frequência e fase) com a forma de onda de referência e idealmente rejeita todos os outros sinais.

Os amplificadores lock-in (LIA) são amplamente utilizados em ambientes de laboratório para detectar sinais de baixa amplitude imersos em ambiente onde

existe uma grande variedade de ruídos. Estes amplificadores são baseados na técnica de detecção síncrona em que o sinal de interesse é modulado em uma determinada frequência, enviada ao meio ou dispositivo a ser analisado e finalmente capturado por um detector. O esquema do detector baseia-se no conceito de detecção à fase sensível, geralmente resultando em dois componentes: em fase e em quadratura. Nesta implementação do biliUFPR utilizou-se uma maneira simples e de baixo custo para implementar um LIA usando microcontroladores padrão, executando um algoritmo simples e rápido, conectado a um computador para a transferência de dados e visualização diferente dos lock-in convencionais que demandam componentes mais sofisticados encarecendo o sistema final. De forma a comprovar/validar o funcionamento deste filtro, realizou-se um experimento com intuito de avaliar a relação sinal ruído.

Ambas as versões analógicas e digitais do LIA são atualmente utilizadas. Nas versões analógicas, a maior parte do tratamento do sinal é realizado por meio de circuitos analógicos. Nas versões digitais o sinal de entrada analógica é convertido imediatamente em digital por um conversor analógico-digital de alta resolução (ADC), e todo o processamento PSD é feito matematicamente por firmware ou software. Os amplificadores lock-in digitais superam os modelos analógicos em todos os parâmetros de desempenho relevantes, como faixa de frequência, ruído de entrada e estabilidade. Além do melhor desempenho, os amplificadores lock-in digitais podem incluir vários demoduladores, o que permite analisar um sinal com diferentes ajustes de filtro ou em múltiplas frequências simultaneamente [4]. Existem muitos modelos comerciais de LIA disponíveis atualmente no mercado, com preços que variam de US \$ 2.000,00 a US \$ 10.000,00. Neste trabalho, foi desenvolvido um LIA digital que custa menos de US \$ 20,00.

Este LIA digital foi implementado com o mesmo microcontrolador MSP430G2553 utilizado em versões precedentes do BiliUFPR associados a circuitos analógicos. A conversão analógico-digital é realizada pelo ADC interno ao microcontrolador (10 bits de resolução), reduzindo assim os custos gerais em comparação com outras implementações de LIA digitais, que normalmente usam ADC externos de alta resolução e alta taxa de amostragem. De forma a contornar

a limitada resolução do ADC interno, são utilizadas técnicas de filtragem digital. Para contornar a limitação da taxa de amostragem, foi utilizada uma abordagem particular em que o sinal de entrada é amostrado exatamente na frequência de Nyquist.

4.1.1 Embasamento matemático

Um amplificador lock-in é basicamente um dispositivo utilizado para a medição da amplitude e fase de um sinal modulado na presença de ruído (WOLF, SMITH, 2004). Em outras palavras, o LIA tem a capacidade de melhorar significativamente a SNR do sinal de entrada e separar os componentes em fase (0°) e em quadratura (90°), em comparação com um sinal de referência AC (FISHER, 2003). A saída do LIA será uma tensão que depende do cosseno da diferença de fase entre o sinal de entrada e o sinal de referência, depois de filtrar a saída do detector sensível à fase. (SCOTT, 2002)

Os componentes principais de um lock-in são o detector sensível à fase (PSD), um deslocador de fase, um amplificador de entrada, um filtro passa-banda e um filtro passa-baixa como pode ser visto na Figura 28 (SCOTT, 2002).

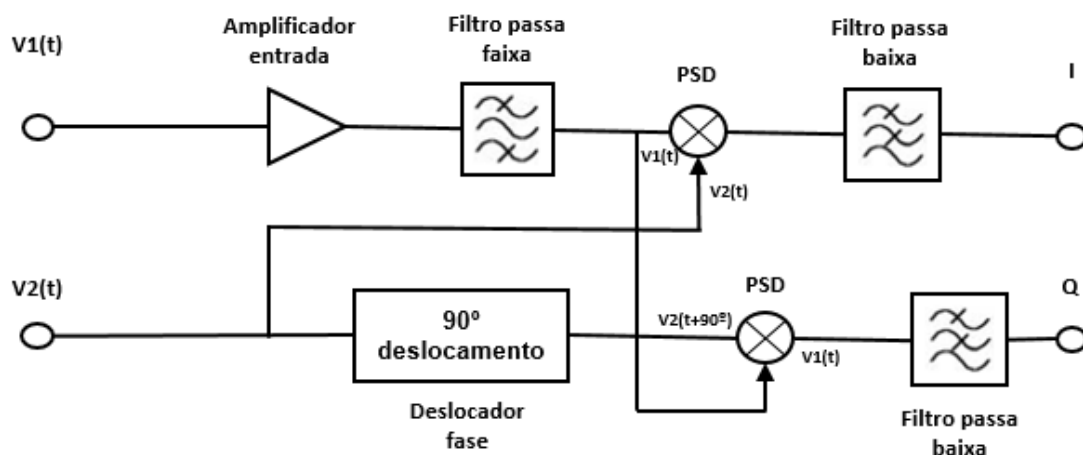


Figura 28 - Diagrama de blocos de um LIA clássico. Fonte: O autor.

O PSD também é conhecido como demodulador ou multiplicador e opera multiplicando dois sinais (sinal de entrada e de referência) para produzir o sinal de saída demodulado. Consideremos o sinal de entrada $V_1(t)$ e o sinal de referência $V_2(t)$ como sendo variáveis no tempo (WOLF, SMITH, 2004), conforme descrito nas equações (20) e (21):

$$V_1(t) = Vp_1 \cdot \cos(\omega_1 \cdot t + \theta_1) \quad (35)$$

$$V_2(t) = Vp_2 \cdot \cos(\omega_2 \cdot t + \theta_2) \quad (36)$$

Sendo Vp_1 , ω_1 e θ_1 são respectivamente a amplitude de pico, a frequência angular e a fase do sinal de entrada e Vp_2 , ω_2 e θ_2 são respectivamente a amplitude de pico, a frequência angular e a fase do sinal de referência. A operação PSD consiste em multiplicar ambos os sinais (TEANEY, 1961), então:

$$V_{PSD}(t) = V_1(t) \cdot V_2(t) \quad (37)$$

$$V_{PSD}(t) = Vp_1 \cdot Vp_2 \cdot [\cos(\omega_1 \cdot t + \theta_1)] \cdot [\cos(\omega_2 \cdot t + \theta_2)] \quad (38)$$

Considerando que a entrada e o sinal de referência possuem a mesma frequência angular, $\omega_1 = \omega_2$ e utilizando-se das identidades trigonométricas, chega-se a:

$$V_{PSD}(t) = \frac{Vp_1 \cdot Vp_2}{2} [\cos(2 \cdot \omega \cdot t + \theta_1 + \theta_2) + \cos(\theta_1 - \theta_2)] \quad (39)$$

Usando o teorema da potência média, pode-se filtrar o termo de alta frequência $\cos(2 \cdot \omega \cdot t + \theta_1 + \theta_2)$:

$$V_{PSD}(t)_{avg} = \int_0^T [\cos(2 \cdot \omega \cdot t + \theta_1 + \theta_2) + \cos(\theta_1 - \theta_2)] \cdot dt \quad (40)$$

$$V_{PSD}(t)_{avg} = \frac{Vp_1 \cdot Vp_2}{2} \cdot \cos(\theta_1 - \theta_2) \quad (41)$$

Para obter o termo em fase do sinal de entrada considera-se $\theta_2 = 0^\circ$ e para o termo de quadratura $\theta_2 = \pi/2$, assim:

$$V_{PSDI}_{avg} = \frac{Vp_1 \cdot Vp_2}{2} \cdot \cos(\theta_1) \quad (42)$$

$$V_{PSDQ_{avg}} = \frac{V_{p1} \cdot V_{p2}}{2} \cdot \cos(\theta_1 - \frac{\pi}{2}) \quad (43)$$

Numa implementação de LIA digital clássica, é utilizada uma taxa de amostragem elevada e ADC de alta resolução para capturar o sinal de entrada, enquanto os sinais de referência (em fase e em quadratura) são numericamente criados e multiplicados digitalmente pelo resultado do ADC de alta resolução (por exemplo, 16 bits) e alta taxa de amostragem (tipicamente 10 a 20 vezes a condição de Nyquist) são normalmente utilizados, acarretando em custos elevados (WOLF, SMITH, 2004). Em geral, para executar este processamento são utilizados circuitos integrados dedicados (FPGAs) ou processadores DSP, tendo em vista que a multiplicação digital em tempo real é uma operação que demanda alta capacidade computacional. O microcontrolador MSP430 microcontrolador não possui multiplicação por hardware, sendo que por software uma multiplicação entre variáveis do tipo "float" necessita de aproximadamente 450 ciclos de clock. Isto torna inviável sua utilização para executar operações de multiplicação em tempo real, necessárias ao algoritmo tradicional do LIA digital.

Para contornar as limitações do microcontrolador utilizado e evitar a necessidade de circuitos adicionais que elevariam o custo do protótipo, foi desenvolvida uma nova técnica de demodulação que utiliza baixa taxa de amostragem e operações matemáticas que são realizadas em apenas um ciclo de clock. Assim, foi utilizado o próprio ADC interno do microcontrolador, o qual tem 10 bits de resolução e uma taxa de amostragem máxima de 20 kS /s. A nova técnica desenvolvida utiliza uma amostragem na condição de Nyquist, isto é, tomando apenas duas amostras por período sinal de referência. A multiplicação digital foi substituída por uma simples subtração/acumulação de amostras, realizada em um ciclo de clock. A Figura 29 ilustra graficamente esta nova técnica de LIA digital, onde o resultado em fase é obtido por amostragem da amplitude do sinal de entrada nas fases 90° e 270° e computando sua diferença. O sinal de quadratura, por sua vez, é obtido por amostragem do sinal de entrada nas fases 0° e 180° e novamente computando sua diferença. A amplitude resultante é então a amplitude pico a pico do sinal de entrada, numa dada fase. Matematicamente, este método pode ser descrito como segue. Considerando o sinal de entrada do demodulador um sinal senoidal, conforme equação (44):

$$V'_1 = V_p \cdot \sin(\omega t + \alpha) \quad (44)$$

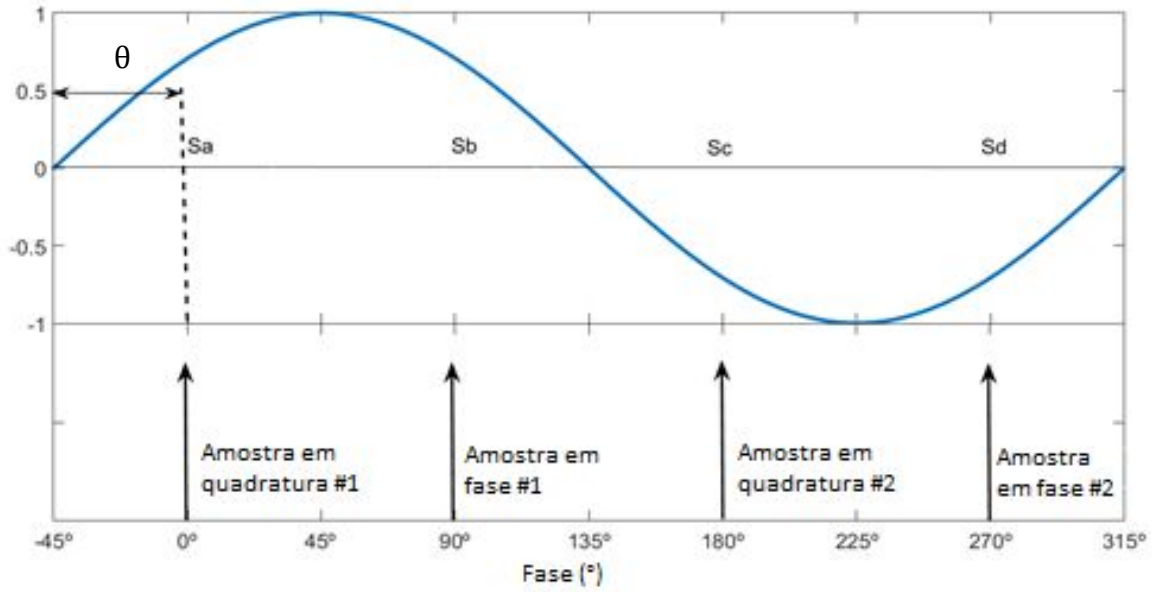


Figura 29 - Representação das amostragens em fase e quadratura. Fonte: O autor.

Se escolhermos as amostras de quadratura S_a (θ) e S_c ($\theta + \pi$). A diferença entre S_a e S_c resultará nas equações (45) e (46):

$$S_a = V_p \cdot \sin(\theta) \quad (45)$$

$$S_c = V_p \cdot \sin(\theta + \pi) \quad (46)$$

Considerando o valor deste PSD é fornecido pela diferença entre S_a e S_c , portanto:

$$V_{PSD'Q} = S_a - S_c = V_p \cdot [(\sin(\theta) - \sin(\theta + \pi))] \quad (47)$$

$$V_{PSD'Q} = 2 \cdot V_p \cdot \sin(\theta) \quad (48)$$

Por outro lado, se escolhermos as amostras em fase S_b e S_d :

$$S_b = V_p \cdot \sin(\theta + \frac{\pi}{2}) \quad (49)$$

$$S_d = V_p \cdot \sin(\theta + \frac{3\pi}{2}) \quad (50)$$

$$V_{PSD'I} = S_b - S_d = V_p \cdot [(\sin(\theta + \frac{\pi}{2}) - \sin(\theta + \frac{3\pi}{2}))] \quad (51)$$

$$V_{PSD'I} = 2 \cdot V_p \cdot \cos(\theta) \quad (52)$$

$$V_{PSD'I} = 2 \cdot V_p \cdot \sin\left(\theta + \frac{\pi}{2}\right) \quad (53)$$

Portanto, conclui-se que se o sinal de entrada estiver em fase com o sinal de referência ($\theta = 0$), a saída em fase $V_{PSDI} = 2V_p$ e a saída em quadratura $V_{PSDQ} = 0$. Se o sinal de entrada estiver em quadratura com o sinal de referência ($\theta = 90^\circ$), a saída em fase $V_{PSDI} = 0$ e a saída em quadratura $V_{PSDQ} = 2V_p$.

A Tabela 2 exibe um resumo das equações para cada método. Para efeito de comparação, será normalizado a tensão de pico do sinal de referência ($V_{p2} = 1V$) para o caso do lock in tradicional.

Tabela 2- Comparativo amplificador lock in tradicional e proposto

		Lock in tradicional	Lock in proposto
Equação	Fase	$V_{PSDI} = \frac{V_{p1}}{2} \cdot \cos(\theta_1)$	$V_{PSD'I} = 2 \cdot V_p \cdot \cos(\theta)$
	Quadratura	$V_{PSDQ} = \frac{V_{p1}}{2} \cdot \cos(\theta_1 - \frac{\pi}{2})$	$V_{PSD'Q} = 2 \cdot V_p \cdot \cos(\theta - \frac{\pi}{2})$
Tensão máxima de saída		$V_{PSD} = \frac{1}{2} V_p$	$V_{PSD} = 2V_p$

Comparando este resultado com a implementação de LIA padrão, é possível verificar que as mesmas informações podem ser obtidas a partir do sinal de entrada. Além disso, a amplitude resultante do sinal detectado é quatro vezes maior que do LIA tradicional, considerando-se o sinal de referência como tendo uma amplitude de pico normalizada de 1 V.

Esta maior amplitude do sinal detectado equivale a um ganho de resolução de 2 bits no processo de conversão A/D, minimizando os requisitos de alta resolução normalmente necessários ao lock-in digital tradicional.

4.1.2 Implementação

Em termos de hardware, a abordagem consiste essencialmente em um microcontrolador e um filtro passa-banda. As principais partes utilizadas do microcontrolador são: o modulador PWM, o ADC e a unidade lógica aritmética (ALU). O PWM gera a frequência de referência, uma onda quadrada usada para modular em amplitude o sinal de entrada. O ADC coleta as amostras do sinal de entrada (após filtragem), de forma síncrona com a frequência PWM. Os

resultados da amostragem são enviados para a ALU executar cálculos e, finalmente, os valores processados são enviados para um display ou computador. O firmware executado pelo microcontrolador é exibido no fluxograma na Figura 30. Note que a frequência do PWM deve ser ajustada de acordo com a frequência central do filtro passa-faixa e a aplicação desejada.

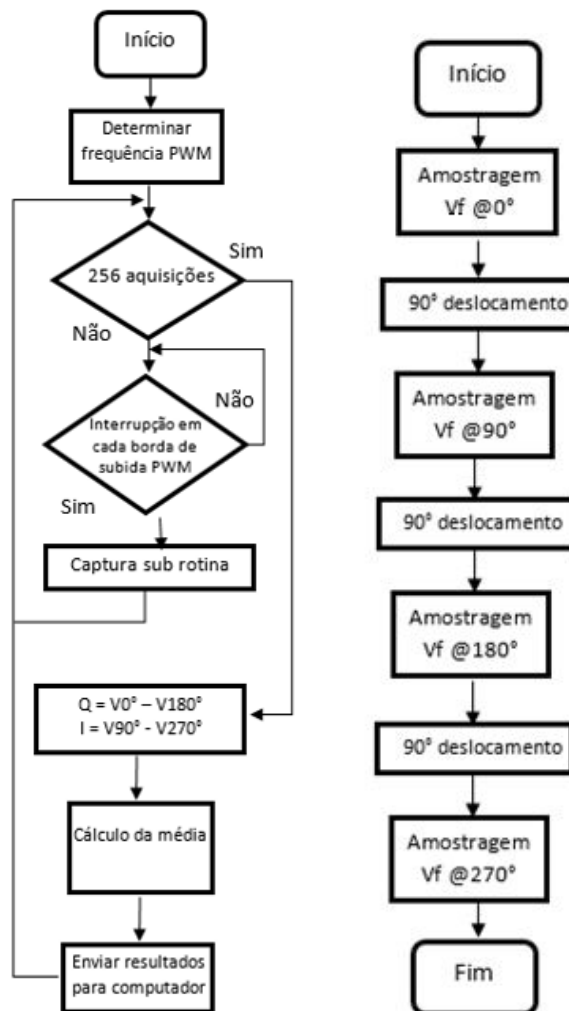


Figura 30 - Fluxograma do firmware - loop principal (esquerda) e sub-rotina de aquisição (direita). Fonte: O autor.

A fim de melhorar a qualidade do sinal amostrado, são realizadas 256 amostragens para cada ponto de medição, sendo o resultado de cada medida obtido do valor médio destas amostragens.

Em seguida é efetuada a subtração destes valores médios tomados nas diferentes condições de ângulo de defasagem, como apresentado na Figura 29 e equações 32 e 36. Vale salientar que a operação de subtração é realizada pelo microcontrolador MSP430 em apenas um ciclo de clock, o que significa um

tempo de 83,3 ns na frequência de 12 MHz. Caso fosse utilizada a técnica convencional do lock-in digital, que realiza a multiplicação das amostras do sinal de entrada por uma função senoidal de referência armazenada na memória, este tempo passaria a 38 us, pois a multiplicação no MSP430 necessita de aproximadamente 450 ciclos de clock. Considerando ainda que na realização tradicional do lock-in digital são necessárias pelo menos 10 amostragens por período da frequência de referência (neste caso 4,1 kHz), tem-se um tempo total de execução da rotina de 380 us. Este tempo é superior a um período da frequência de referência (244 us), o que inviabilizaria a utilização do MSP430 para esta aplicação. Neste caso seria necessário a utilização de um microcontrolador com maior capacidade de processamento, o que implicaria num aumento do seu custo e consumo de energia.

Para melhorar a relação sinal ruído e garantir uma forma de onda senoidal na entrada do ADC, foi utilizado um filtro passa-faixa ativo multi feedback de segunda ordem, cujo circuito pode ser visto na Figura 31.

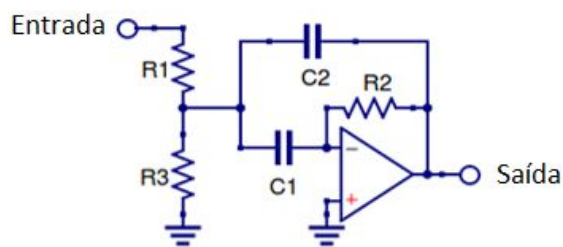


Figura 31 - Diagrama esquemático do filtro passa-banda ativo feedback múltiplo de segunda ordem usado em nossa implementação LIA antes da conversão ADC.
Fonte: O autor.

A frequência central do filtro, o fator de qualidade Q e o ganho máximo A_{max} podem ser calculados pelas equações:

$$f_c = \frac{1}{2\pi\sqrt{R_{eq}\cdot R_2\cdot C_1\cdot C_2}} \quad (54)$$

$$R_{eq} = \frac{R_1\cdot R_3}{R_1 + R_3} \quad (55)$$

$$Q = \frac{\sqrt{\frac{R_2}{R_1}}}{2} \quad (56)$$

$$A_{max} = -\frac{R_2}{2\cdot R_1} \quad (57)$$

O ganho A_{max} deve satisfazer a condição $A_{max} < 2 Q^2$. Nesta implementação, determinou-se uma frequência central do filtro de 4,1 kHz. Esta frequência está muito distante da frequência fundamental da rede elétrica, dos harmônicos e também distante da frequência de comutação das lâmpadas elétricas utilizadas atualmente (que variam de 20 kHz a 40 kHz). A resposta em frequência do filtro passa-banda usado no LIA é mostrada na Figura 32.

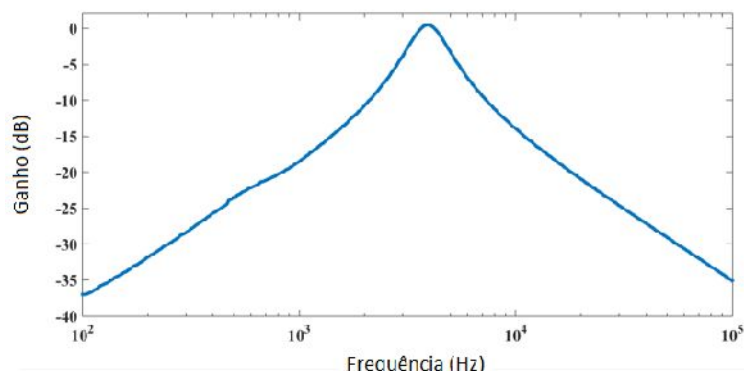


Figura 32 - Resposta em frequência do filtro passa-banda medido com um Vector Network Analyzer (HP3577A), mostrando uma frequência central de 4,1 kHz.
Fonte: O autor.

4.1.3 Resultado para medida de intensidade luminosa

Neste experimento utilizou-se uma fonte luminosa (LED verde) modulada em amplitude pelo sinal elétrico PWM (onda quadrada de 4,1 kHz, $I_{pk} = 10$ mA). A detecção de luz foi realizada por uma foto transistor SFH300 (Osram). A fim de mostrar a efetividade na recuperação de um sinal luminoso de baixa intensidade na presença de ruídos luminosos, esta configuração foi montada sob a presença de luz fluorescente e luz solar. Um diagrama simplificado desta configuração pode ser visualizado na Figura 33.

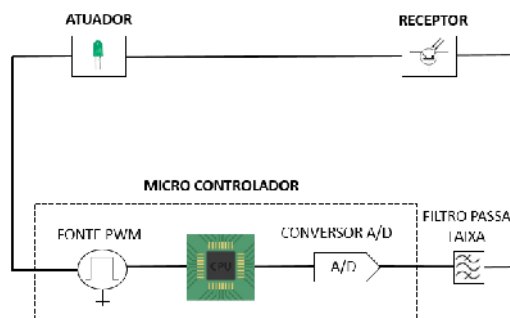


Figura 33 - Diagrama simplificado LIA para a medição de um sinal luminoso modulado. Fonte: O autor.

O fluxo luminoso medido a partir do próprio LED, em uma sala escura, foi de 0,017 lux. Usando o nosso LIA para medir a intensidade do LED na mesma condição de escuridão, resultou em 41,65 mV (amplitude de saída em fase com o sinal modulante). Com esta medição, pode-se deduzir a relação entre a tensão LIA e o fluxo luminoso do LED modulado (sensibilidade do sinal), que resulta em 2,45 V / lux. A mesma medição foi então repetida sob a presença de luz ambiente, com um fluxo luminoso total (fluorescente e luz solar) de 499 lux. Nesta condição, a medição do LIA resultou em 42,98 mV. Considerando que 1,33 mV adicional é devido à luz ambiente (ruído), a relação entre a tensão LIA e a luz ambiente (sensibilidade ao ruído) é de $2,67 \cdot 10^{-6}$ V / lux. De acordo com estas informações, a relação sinal ruído desta medição pode ser calculada como:

$$SNR = \frac{2.45}{2.67 \cdot 10^{-6}} = 917603 \quad (58)$$

O resultado da relação sinal ruído em dB será:

$$SNR_{dB} = 20 \cdot \log_{10}(917603) = 119dB \quad (59)$$

Este valor de SNR é comparável ao dos LIAs digitais comerciais que apresentam valores próximos a 100 dB, como por exemplo o modelo MFLI 500 kHz da Zurich Instruments.

Portanto, o amplificador lock-in é uma ferramenta muito útil para recuperar sinais de baixa intensidade em ambientes ruidosos. Nossa abordagem LIA digital simplifica os requisitos de hardware e software para obter uma saída dupla (em fase e em quadratura) com um custo muito inferior aos atuais dispositivos comerciais ou implementações convencionais. Algoritmos simples de processamento de sinal digital foram utilizados para implementar os vários cálculos matemáticos requeridos pelo LIA digital, como por exemplo a amostragem na condição mínima de Nyquist associada à simples subtração das amostras, em vez de sobre amostragem e multiplicação. Isso reduz os requisitos para o desempenho de processamento do microcontrolador, permitindo uma implementação de baixo custo e baixo consumo.

Um artigo científico sobre sobre esta técnica de implementação LIA foi submetido para a Review of Scientifics Instruments em 2 de Maio de 2017 (Apêndice 1).

4.2 Alteração do intervalo de aquisição dados

Na versão BiliUFPR 1 utilizou-se o LED laranja (600nm), em conjunto com o LED vermelho (650nm) para determinar o coeficiente angular da reta de absorvência da melanina. Porém de acordo com Azeka, L. A. L. (2009) no artigo “*Analizador de bilirrubina no soro de neonatos utilizando espectrofotometria direta*” existe uma instabilidade do comportamento da molécula de hemoglobina nesta região do espectro 600 – 650nm, conforme indicado pela flecha da Figura 34. Esta instabilidade, proveniente do fenômeno oxi-hemoglobina (AZEKA,2009), pode gerar interferência no cálculo da concentração da bilirrubina.

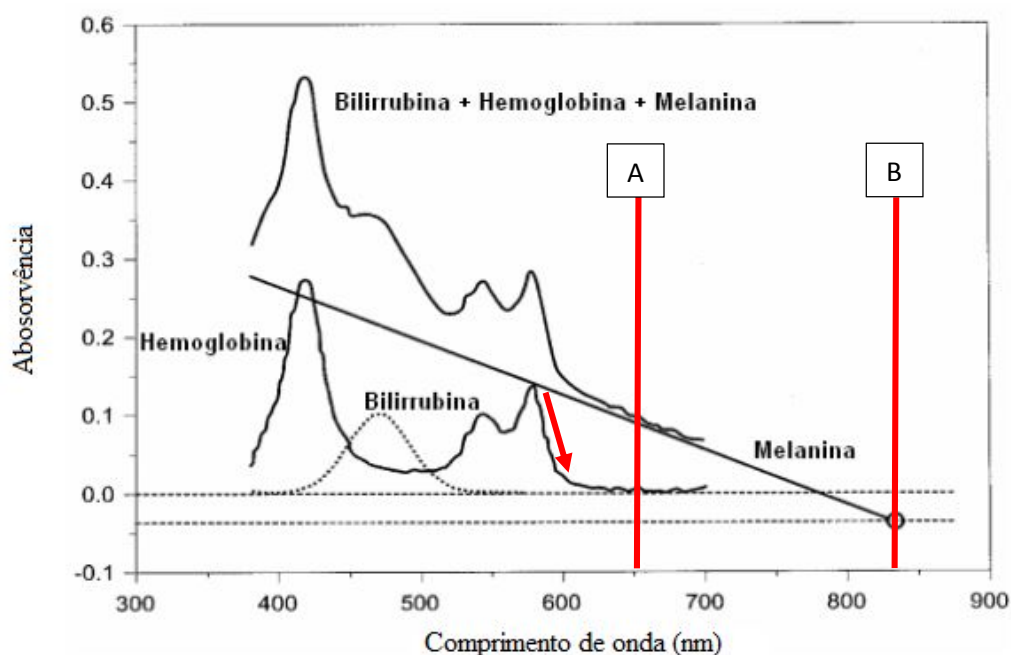


Figura 34 - Determinação dos pontos para equacionamento reta melanina. Fonte: O autor.

Desta forma, na versão 2.0 do BiliUFPR, substitui-se o LED laranja (600nm) pelo LED infravermelho (830nm) possibilitando a aquisição dos dados numa região onde a variação do comportamento espectral da molécula de

hemoglobina não exerce influência, conforme pontos mostram os pontos A (LED vermelho – 650nm) e B (LED infravermelho – 830nm).

O comprimento de onda de emissão de cada LED usado na versão 2.0 foi determinado com o espectrômetro modelo RED TIDE USB 650 fabricado pela Ocean Optics, conforme ilustra a Figura 35.

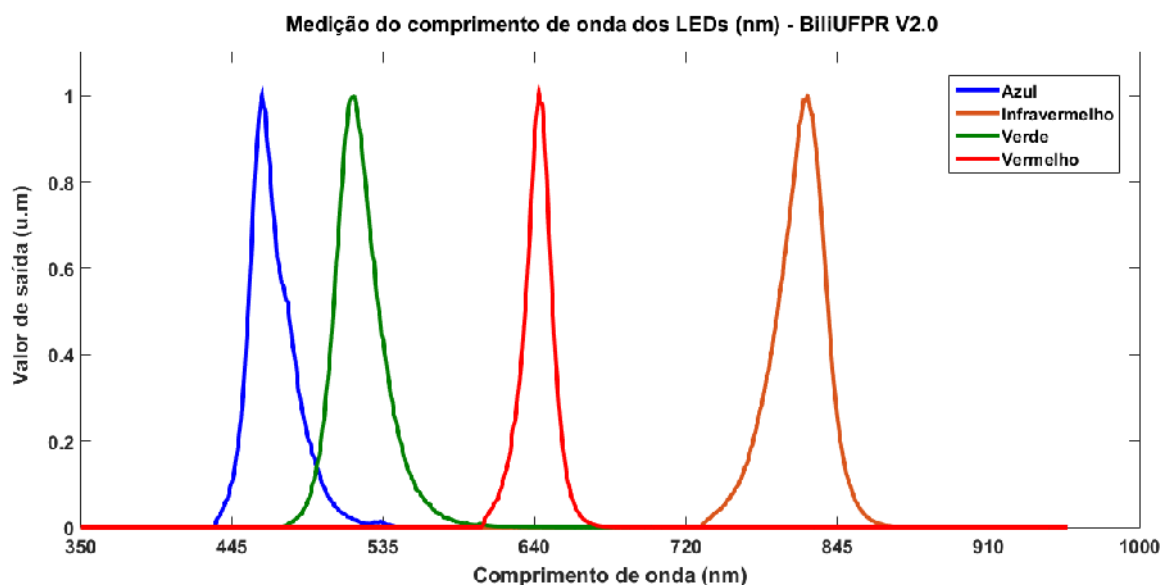


Figura 35 - Medição do comprimento de onda dos LEDs. Fonte: O autor.

Através da análise gráfica, pode-se determinar o comprimento de onda do pico de emissão para os quatros LEDS. Os valores dos comprimentos de onda são exibidos na Tabela 3. Estes valores serão necessários para determinação da equação da concentração de bilirrubina através da aplicação das leis de Beer-Lambert.

Tabela 3 – Comparativo entre os comprimentos de onda dos LEDs utilizados nas versões BiliUFPR 1 e 2. Fonte: O autor.

BiliUFPR V1	BiliUFPR V2
Azul - 470nm	Azul - 469nm
Verde - 530nm	Verde - 530nm
Laranja - 600nm	Vermelho - 652nm
Vermelho - 650nm	Infravermelho - 830nm

A partir desta modificação do espectro incidente na derme, foi ajustada a equação da reta da melanina, conforme equação (60).

$$A_{Ml}(\lambda) = \frac{A_{830} - A_{650}}{830 - 650} (\lambda - 650) + A_{650} \quad (60)$$

Assim, os valores de absorvência da melanina em 470nm e 530nm são respectivamente:

$$A_{Ml}(470) = -0.67(A_{T830} - A_{T650}) + A_{T650} \quad (61)$$

$$A_{Ml}(530) = 2.A_{T650} - A_{T830} \quad (62)$$

Assim substituindo na equação da absorvência da bilirrubina em 470nm, tem-se a nova fórmula da concentração da bilirrubina a partir dos valores das potências refletidas totais nas cores utilizados no BiliUFPR 2.0.

$$C_{Bi} = K. \left[\log P_{R470} - \log P_{R530} + \frac{\log P_{R830}}{3} - \frac{\log P_{R650}}{3} \right] \quad (63)$$

Portanto, este novo intervalo utilizado pelo BiliUFPR V2.0 para a determinação da equação de reta da absorvência da melanina deve resultar numa maior confiabilidade dos dados, quando comparado com o BiliUFPR V1.2.

A determinação da constante K na equação (63) é feita empiricamente, através de superfícies conhecidas ou por comparação com um bilirrubinômetro calibrado.

4.3 Hardware

Nesta versão foram implementados dois filtros: passa-faixa (lock-in) e passa-baixa. O primeiro já foi apresentado previamente na seção 4.1.2. e o segundo associado à modulação PMW resulta na conversão D/A para acionamento dos LEDs.

4.3.1 Filtro Passa-baixa para o PWM

O circuito passa-baixa em conjunto com a modulação PWM do algoritmo de aproximação sucessiva tem a função de representar um circuito D/A. A Figura 36 exibe o circuito do filtro passa-baixa em que pode-se dividir em quatro grupos.

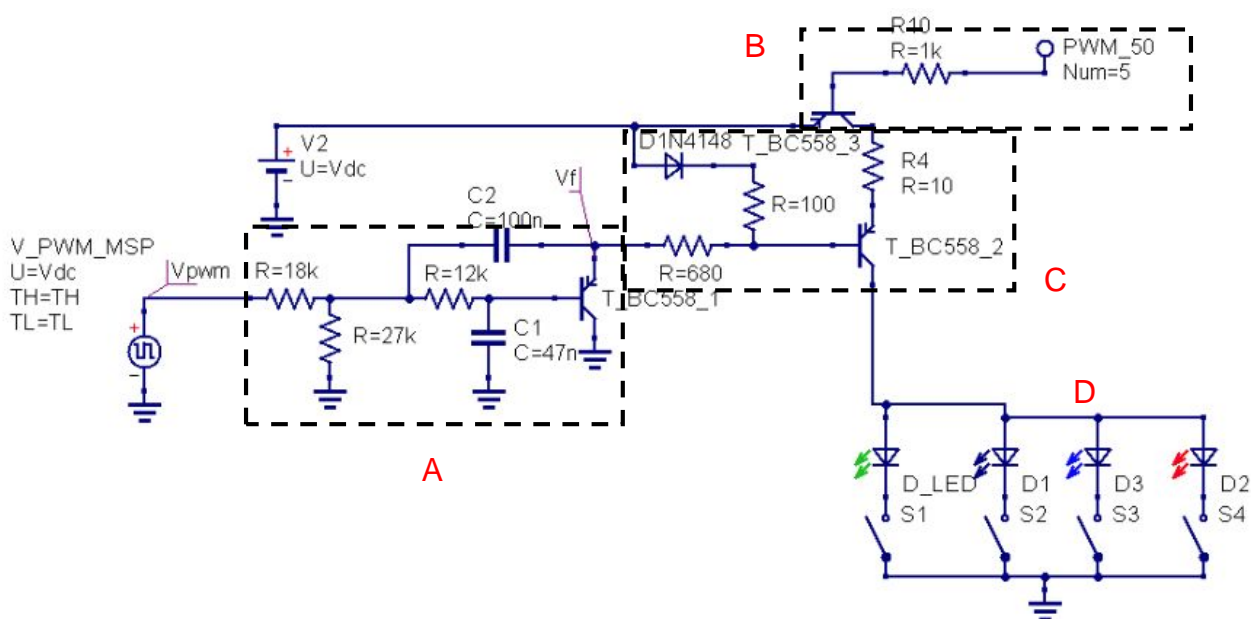


Figura 36 - Circuito filtro passa baixa. Fonte: O autor.

O bloco A representa um filtro passa-baixa centrado na frequência de 200 Hz. O bloco B recebe um pulso PWM fixo em 50% cuja função é modular a corrente dos LEDs na frequência de detecção do amplificador lock-in. O bloco C trata-se de um conversor tensão / corrente para polarização dos LEDs. Os LEDs, indicados no ponto D, são chaveados individualmente através do comando do microcontrolador. A Figura 37 demonstra a resposta em frequência do filtro passabaixas, onde pode-se visualizar que frequências a partir de 200Hz apresentam atenuação, sendo que na frequência do lock-in (4,1 kHz) a atenuação é de um fator 500 ou 54 dB.

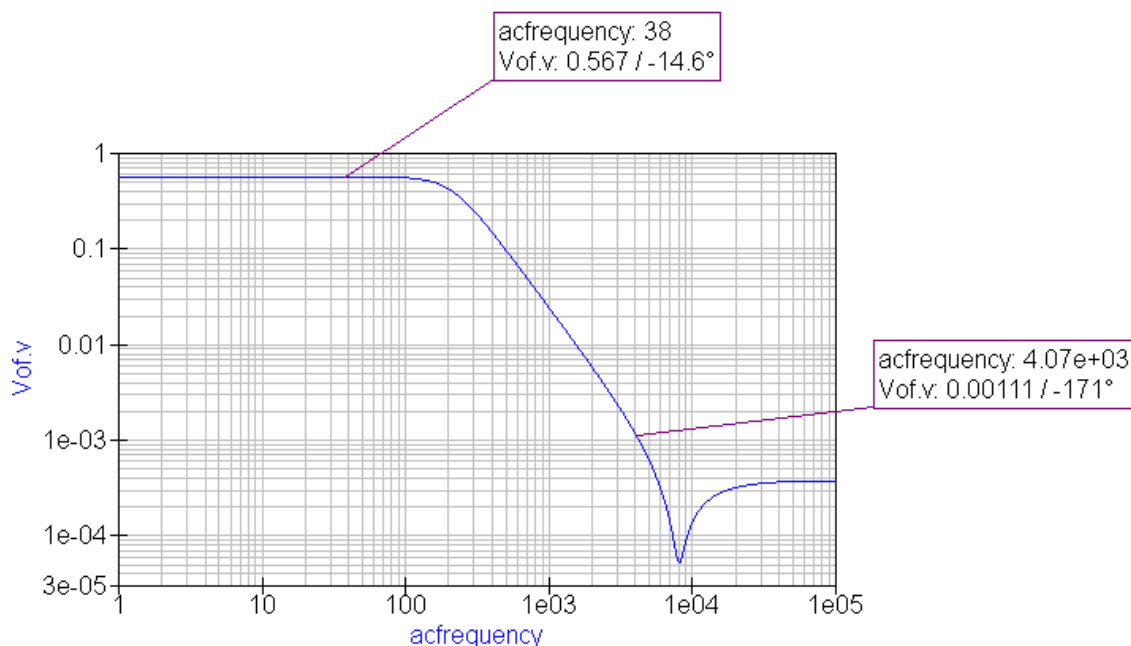


Figura 37 - Resposta em frequência vs atenuação do filtro passa baixa. Fonte: O autor.

4.4 Software

A lógica de programação utilizada na versão 2.0 assemelha-se à versão anterior em que a rotina de calibração utiliza o algoritmo de aproximação sucessivas para determinação da corrente elétrica em cada LED. A principal inovação refere-se a técnica lock-in, descrita no capítulo 4.1. Devido à curta distância (70 mm) entre os elementos ópticos (LEDs e fotodiodo) e a superfície refletora, o tempo de propagação da luz é desprezível (~ 50 ps) portanto a defasagem entre os sinais emitido e recebido pode ser desconsiderada ($\sim 7 \cdot 10^{-4}$ graus). Sendo assim não é necessário a análise do componente em quadratura na implementação do lock-in aplicado ao bilirrubinômetro.

Cabe salientar de que devido à baixa memória do microcontrolador MSP430G2553 necessitou-se limitar a utilização de variáveis *double* (que utilizam 8 bytes). Portanto foi necessário substituir as variáveis originais da rotina lock-in por variáveis tipo *float* e *int*. Esta troca limita a resolução dos cálculos, no entanto com as medidas realizadas em ambiente de laboratório, não foram constatadas incoerências nas medidas. A rotina de programação completa do microcontrolador desenvolvida em linguagem C no ambiente IAR (IAR *Embedded Workbench*) encontra-se no Anexo 1.

4.5 Princípio de funcionamento BiliUFPR V2.0

O princípio de funcionamento do bilirrubinômetro BiliUFPR V2.0 consiste na utilização de quatro LEDs (azul, verde, vermelho e infravermelho), um fototransistor do modelo SH300, um micro controlador MSP430G2553, um botão para calibração e um botão para medição. O resultado da concentração da bilirrubina é exibido no display. Um diagrama simplificado da versão 2.0 pode ser visualizado na Figura 38.

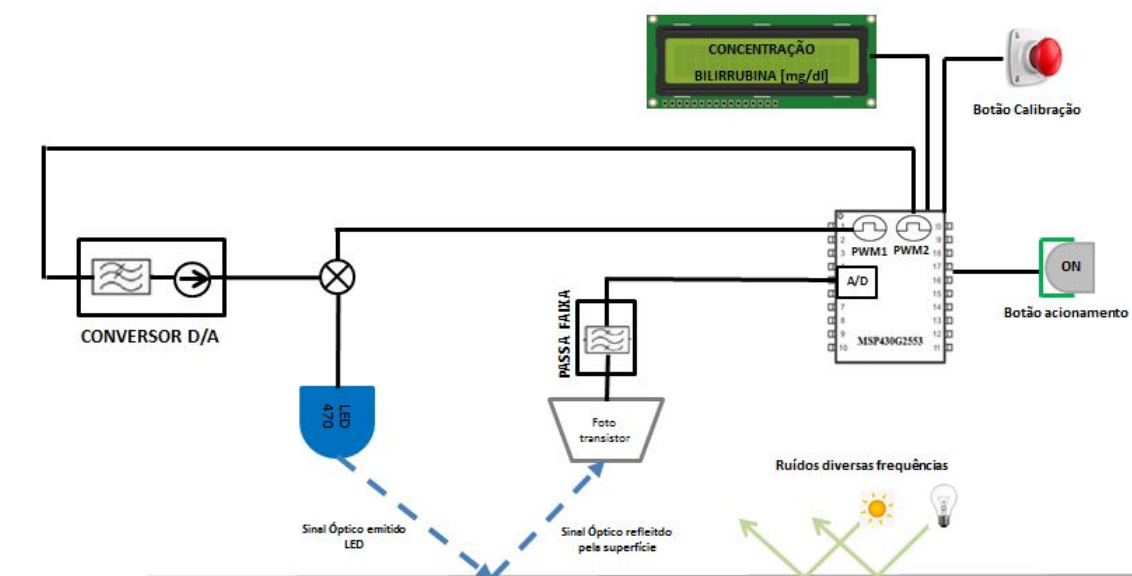


Figura 38 - Diagrama simplificado do BiliUFPR V2.0

4.5.1 Rotina de calibração

A rotina de calibração é um processo iterativo realizado com cada um dos LEDs apontados para uma superfície branca (folha de papel), que possui a mesma refletividade em todos os comprimentos de onda utilizados. Sua função principal é normalizar para cada cor o valor do sinal elétrico resultante após o fototransistor. Esta normalização possibilita uma correção da sensibilidade do fototransistor para cada comprimento de onda, assim como as diferenças de eficiência de conversão eletro-óptica dos LEDs. Além disto, a calibração também possibilita uma compensação da variação dos componentes com a temperatura e tensão de alimentação do circuito (bateria). Esta rotina essencialmente

procura, através de um algoritmo de aproximações sucessivas, o valor de corrente de polarização de cada LED que resulte num dado valor de tensão após a detecção pelo fototransistor. A Figura 39 ilustra o processo iterativo de calibração, iniciado pela aplicação do sinal proveniente do PWM2, que em conjunto com um filtro passa baixas e um conversor tensão-corrente, formam um conversor D/A que é utilizado para acionar os LEDs. Este valor de corrente elétrica é modulado em amplitude através do PWM 1 que é fixo em 50% do ciclo de trabalho e representa a onda portadora do sinal. Portanto, o LED recebe um sinal modulado em amplitude com uma frequência de 4.11 kHz. Esta frequência de operação do LED foi escolhida pois está distante das frequências dos ruídos luminosos típicos presentes no ambiente (luz solar, lâmpadas LED e fluorescentes com reatores eletrônicos).

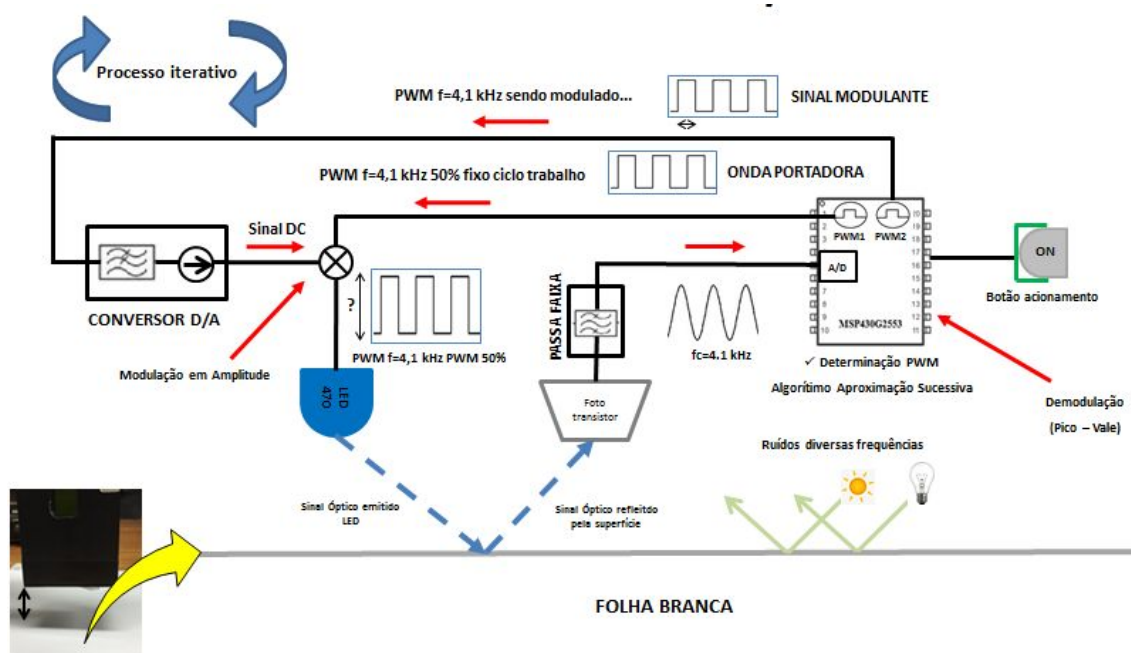


Figura 39 - Diagrama simplificado A da rotina de calibração do BiliUFPR V2.0

O sinal detectado pelo fototransistor é enviado para o circuito passa-faixa centrado na frequência de 4.11 kHz que resulta numa senóide de mesma frequência. O processo de demodulação consiste na diferença entre pico e vale da senóide, assim como descrito anteriormente na seção 4.1.1. Ao longo do processo de calibração, é encontrado o valor do ciclo de trabalho do PWM2 para

cada um dos LEDs, de modo que o sinal resultante no fototransistor seja sempre o mesmo, como pode ser visualizado na Figura 40.

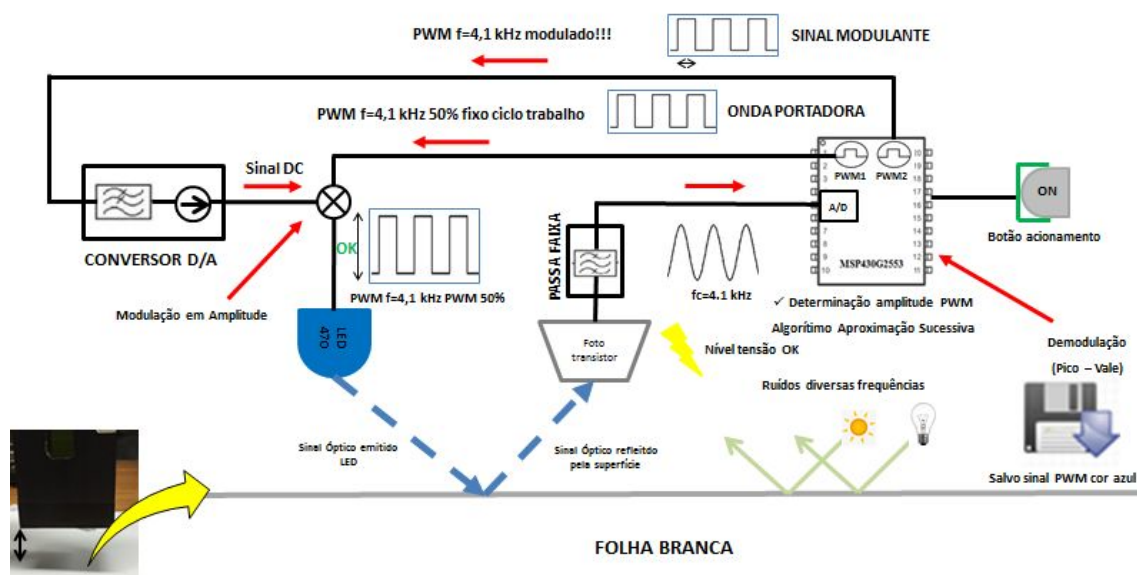


Figura 40 - Diagrama simplificado B da rotina de calibração do BiliUFPR V2.0

É válido ressaltar que este mesmo processo de calibração ocorre individualmente para os demais LEDs.

4.5.2 Rotina de medição

A rotina de medição irá utilizar os valores PWMs salvos oriundos da rotina de calibração para executar o tratamento matemático com intuito de obter a concentração de bilirrubina. Conforme explicado no item 2.2 deste trabalho, cada cor do LED possui uma função específica no equacionamento da concentração da bilirrubina. Portanto são acionados individualmente cada LED e o valor detectado pelo fototransistor é demodulado e armazenado no micro controlador, conforme exhibe a Figura 41.

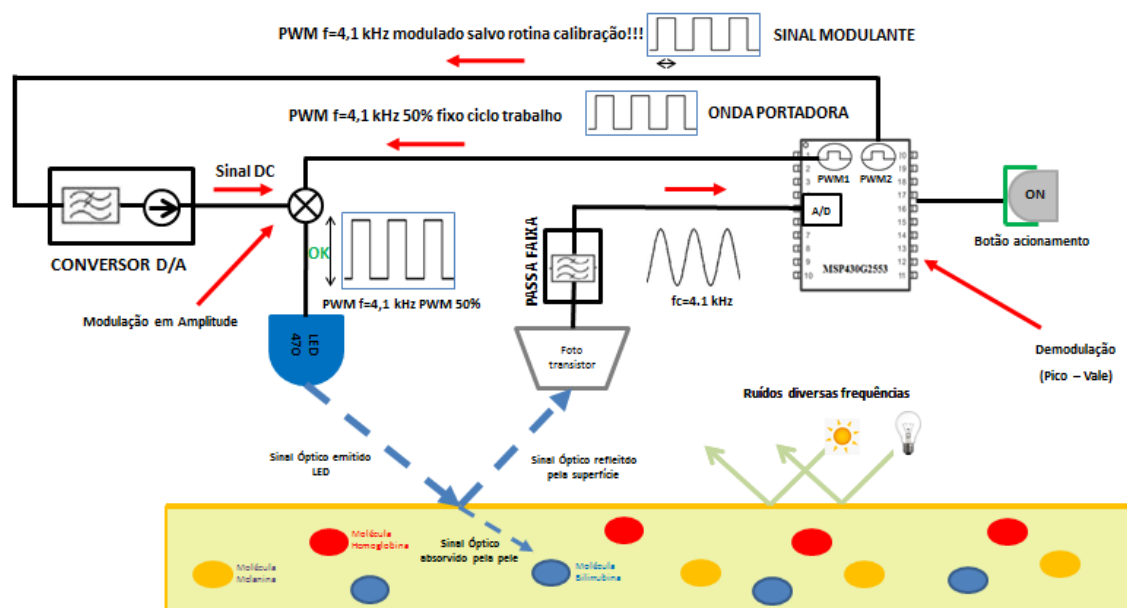


Figura 41 - Diagrama simplificado da rotina de medição do BiliUFPR V2.0

É válido ressaltar que este mesmo processo de medição ocorre individualmente para os demais LEDs

4.6 Validação laboratorial

Com a utilização do osciloscópio digital modelo MSO-X 3024A fabricado pela Agilent Technologies foi possível obter as formas de onda das rotinas de calibração e medição. Utilizou-se a mesma metodologia de validação anterior em que consiste na verificação da tensão lida pelo fototransistor em cada cor do LED para a rotina de calibração. Neste protótipo avaliou-se também a influência da luz ambiente ao passo que realizaram-se medidas em ambientes com luz (ruído) e sem luz demonstrando a eficácia do amplificador lock-in. Uma distância de 70 mm entre os elementos ópticos (LEDs e fotodiodo) e a superfície refletora foi mantida constante em todas as medições realizadas com a versão 2.0. Esta distância foi considerada adequada e segura para medição futura na derme de neonatos.

4.6.1 Rotina de calibração

A Figura 42 exibe o processo de calibração em que consiste na utilização do processo iterativo de aproximações sucessivas. Para esta validação, utilizou-se uma superfície branca. A linha verde indica a tensão lida pelo fototransistor. Ao final da calibração de cada LED a tensão lida pelo fototransistor será igual para todas as cores, conforme indicam as flechas coloridas, exibidas na Figura 42 que representam a calibração de cada uma das cores dos LEDs.

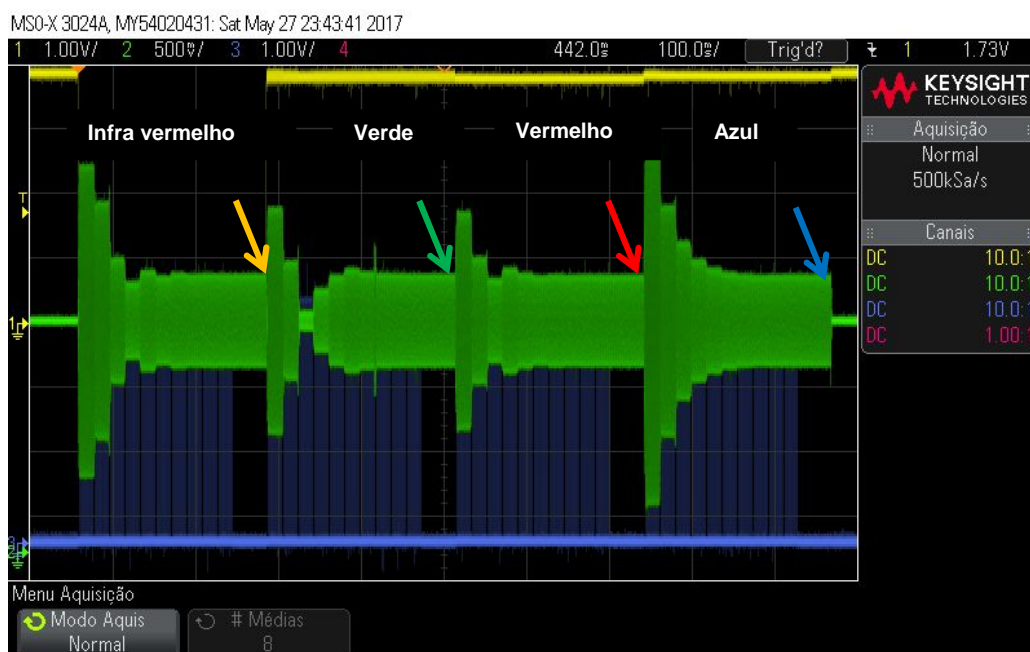


Figura 42 -Forma de onda da rotina de calibração. Fonte: O autor.

A linha azul do gráfico refere-se ao processo de obtenção do valor fornecido pelo amplificador *lock-in* em que são subtraídos os componentes de pico e vale de 64 amostras. A Figura 43 demonstra como ocorre a amostragem do componente real do filtro através da determinação do pico e vale da saída do filtro passa-faixa que está sincronizado com o pino 1.0 o qual foi utilizado para determinar o momento da captura dos picos e vales da senóide.

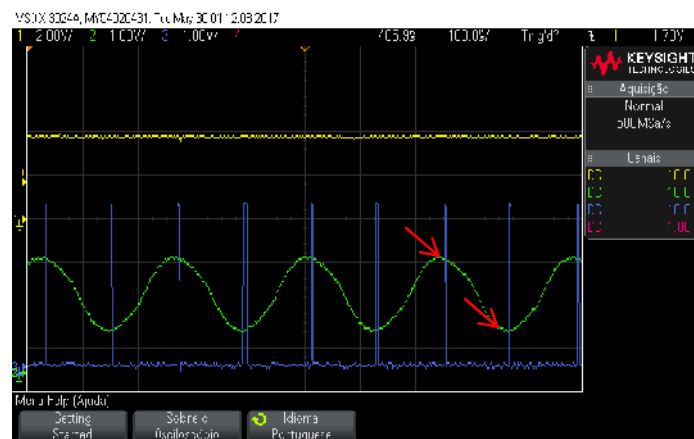


Figura 43 – Sincronismo da amostragem do lock in para determinação da amplitude em fase com o sinal modulante. Fonte: O autor

4.6.2 Rotina de medição

Após executada a rotina de calibração, são armazenados os valores digitais do PWM utilizados para cada cor que são convertidos em corrente elétrica após passagem pelo filtro passa-baixa. Com intuito de comprovar o funcionamento desta rotina, espera-se que quando o feixe luminoso, composto pelas quatro cores, incidir numa superfície preta o fototransistor indique valores de tensão baixos e da mesma maneira quando os utilizar numa superfície branca, todas as cores acusem um valor de tensão alto.

a) Medição superfície branca

A Tabela 4 exhibe os resultados de 100 medições numa superfície branca em duas condições: ambientes claros, cuja intensidade luminosa é de 499 lux, e escuros cuja intensidade luminosa é de 4 lux. Na versão 2.0, o resultado da rotina de calibração na superfície branca foi normalizado em 3500, o que representa uma tensão de aproximadamente 2 Vpp. Como já mencionado anteriormente, a distância entre o conjunto óptico e as superfícies de medição foi mantida constante em 70 mm.

Tabela 4 – Resultados de 100 medições em uma superfície branca em ambientes claros (499 lux) e escuros (4 lux) do BiliUFPR V2.0. Fonte: O autor.

Cor	Superfície branca									
	Ambiente claro (499 lux)					Ambiente escuro (4 lux)				
	IV	VD	VM	AZ	Geral	IV	VD	VM	AZ	Geral
Média (u.m)	3515,0	3478,0	3528,0	3525,0	3511,5	3500,0	3317,0	3480,0	3550,0	3461,8
Desvio padrão (u.m)	6,3	5,6	4,4	5,6	5,5	7,4	4,8	5,3	6,1	5,9
SNR (dB)	55,0	55,8	58,1	56,0	56,2	53,5	56,2	56,4	55,3	55,3

Observa-se que em todas as cores dos LEDs os valores obtidos foram próximos de 3500 u.m, que é o valor esperado, e com baixo desvio padrão. A média para ambientes claros foi de 3511,5 u.m. e para ambientes escuros foi de 3461,8 u.m. o que comprova o funcionamento adequado da rotina de medição em conjunto com o amplificador lock-in. Não obstante, a relação sinal ruído média de 56,2 dB e 55,3dB para ambientes claros e escuros respectivamente o que indica uma boa performance do filtro.

Estas mesmas medições foram realizadas com o protótipo BiliUFPR V1.2. Utilizando o procedimento padrão de medição, ou seja, com contanto físico com a superfície. Para esta condição os valores médios de SNR foram de 23dB. Posteriormente realizou-se o teste de medição sem contanto físico com a superfície numa distância de 3cm entre os LEDs e a folha branca. O valor médio de SNR foi de 13dB. Portanto, comprava-se que a relação sinal ruído do BiliUFPR V2.0 é superior à versão 1.2.

b) Medição superfície preta

A Tabela 5 exhibe os resultados de 100 medições numa superfície preta em duas condições: ambientes claros, cuja intensidade luminosa é de 499 lux, e escuros cuja intensidade luminosa é de 4 lux.

Tabela 5 – Resultados de 100 medições de uma superfície preta em ambientes claros (499 lux) e escuros (4 lux). Fonte: O autor.

Cor	Superfície preta									
	Ambiente claro (499 lux)					Ambiente escuro (4 lux)				
	IV	VD	VM	AZ	Geral	IV	VD	VM	AZ	Geral
Média (u.m)	178,0	212,0	281,0	212,0	220,8	89,0	150,0	192,0	126,0	139,3
Desvio padrão (u.m)	6,0	4,9	5,2	4,7	5,2	4,9	5,6	5,3	4,8	5,2
SNR (dB)	29,4	32,7	34,6	33,2	32,5	25,2	28,6	31,1	28,4	28,3

Nesta condição nota-se um baixo desvio padrão (5.2 u.m.) e os valores médios nos ambientes claro e escuro foram de 220,8 e 139,3 respectivamente. Estes valores são inferiores ao da superfície branca o que comprova o funcionamento correto desta rotina.

c) Medição superfícies amarelas

Um artigo publicado por (HAKIMI, 2016) determinou através de um estudo empírico os valores de concentração de bilirrubina (mg/dl) para diferentes tons de superfícies amarelas, conforme é ilustrado na Figura 44.




Yellow shade	Jaundice level (mg/dL)
Normal 	0-4mg/dL
1 	5-14mg/dL
2 	15-19mg/dL

Figura 44 - Superfícies amarelas com respectivos valores de concentração de bilirrubina. Fonte: (ASYRAF HAKIMI, 2016)

Foram utilizadas estas superfícies para validação dos protótipos. A figura Figura 45 exibe os resultados de 100 medições para cada intervalo (0-4mg/dl, 5-14mg/dl e 15-19mg/dl) dos valores de bilirrubina calculados pelo BiliUFPR V1.2.

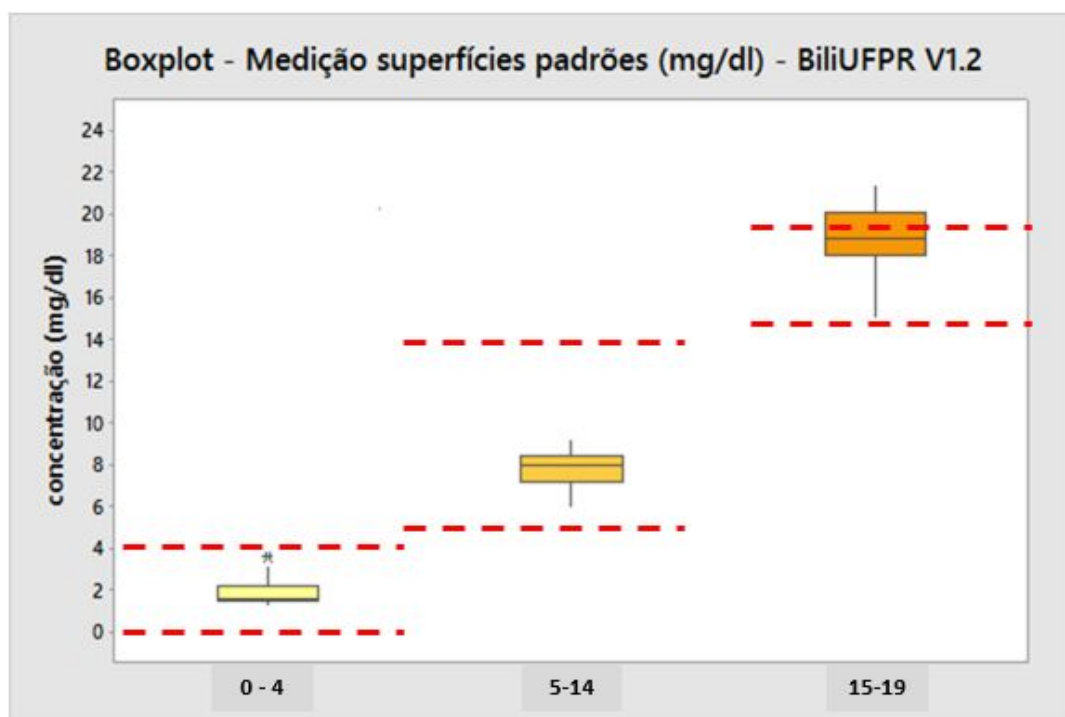


Figura 45 - Resultados de 100 medições em cada intervalo das superfícies amarelas – BiliUFPR V1.2

Percebe-se que para os dois primeiros intervalos (0-4mg/dl e 5-14mg/dl) todos os valores apresentam resultados concordantes com o esperado, no entanto para o intervalo de 15-19mg/dl nota-se uma elevada dispersão dos dados e valores que ultrapassaram o limite superior.

Utilizou-se a mesma metodologia para avaliação do BiliUFPR V2.0, conforme ilustra Figura 46.

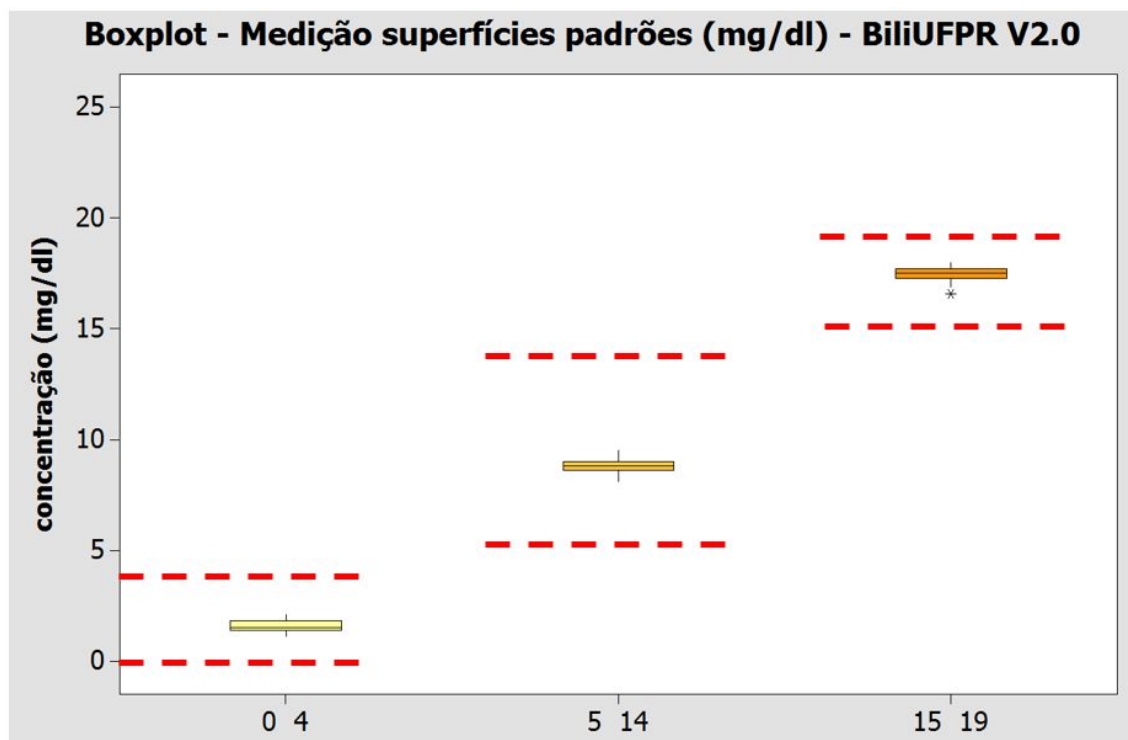


Figura 46 - Resultados de 100 medições em cada intervalo das superfícies amarelas – BiliUFPR V2.0

Observa-se que todos os resultados da versão 2.0 apresentaram valores dentro dos limites especificados e com baixa dispersão corroborando com a elevado relação sinal ruído calculado no item 4 desta pesquisa.

4.6.3 Considerações relativas à distância de medição

Como mencionado anteriormente, em todos os testes efetuados com a versão 2.0 foi mantida uma distância constante de 70 mm entre o conjunto óptico e a superfície refletora. Caso esta distância seja alterada antes da etapa de calibração, a rotina de aproximações sucessivas adapta a potência luminosa emitida pelos LEDs de modo a manter o mesmo nível de potência óptica recebida no fototransistor. Esta compensação é válida até uma distância de aproximadamente 120 mm, quando atinge-se a máxima corrente dos LEDs, não sendo mais possível compensar a perda de potência causada pela divergência do feixe luminoso.

No cálculo da concentração de bilirrubina realizado na rotina de medição, todos os valores medidos são normalizados, de modo que se a potência luminosa recebida for diferente daquela utilizada na rotina de calibração, também haverá uma compensação. Assim, o cálculo da concentração considera apenas as diferenças entre as diversas cores e não o valor absoluto de cada cor. Desta forma, variações na distância de medida em relação à derme não devem ter influência significativa no resultado da concentração. Esta afirmação será verificada futuramente, quando forem realizados os testes *in vivo* no HC.

4.7 Conclusões parciais

Os resultados obtidos através da análise das formas de onda das rotinas de calibração e dos resultados mensurados na rotina medição demonstram o funcionamento adequado na versão 2.0.

Na rotina de calibração observou-se que ao final do processo de aproximação sucessiva todos os valores de cada cor do LED apresentaram resultados similares o que comprova o correto funcionamento da mesma.

Na rotina de medição foram mensurados, em cada uma das cores do LEDs, os valores de saída lidos pelo fototransistor em superfície branca e preta. Primeiramente utilizou-se uma superfície branca em que identificou-se valores médios de 3 511,5 u.m (ambiente claro) e 3 461,8 u.m (ambiente escuro) próximo do desejado que seria 3 500u.m. O valor SNR médio foi de 55,8 dB. Comparando estes resultados com a versão 1.2 conclui-se que ocorreu uma significativa melhor da relação sinal ruído.

Posteriormente utilizou-se uma superfície preta na qual foram medidos os valores médios de 220,8 u.m. (ambiente claro) e 139,3 u.m (ambiente escuro), o que indica uma baixa potência refletida ao fototransistor, ou seja, atendeu ao esperado.

É válido salientar que mesmo nas condições ruidosas (ambiente claro) os valores estão coerentes o que é reflexo do correto funcionamento do amplificador

lock-in cuja função principal nesta aplicação é minimizar os ruídos luminosos provenientes do ambiente.

Nas medições em superfícies padrões, nota-se que a versão BiliUFPR 2.0 apresentou todos os resultados dentro dos limites especificados ao passo que a versão 1.2 não demonstrou ser confiável para medições no intervalo de 15 – 19mg/dl. Isto comprova o grande potencial da instrumentação utilizada na versão 2.0 se comparada à 1.2.

5 Conclusões e perspectivas

Este trabalho propôs o aprimoramento da versão BiliUFPR V1.2 (medição com contato físico) e o desenvolvimento de uma nova versão BiliUFPR V2.0 (medição sem contato físico).

A versão 1.2 foi avaliada em ambiente de laboratório através da detecção das formas de onda da rotina de calibração e dos resultados das medidas em superfície branca e preta. Os resultados foram satisfatórios e posteriormente disponibilizou-se este protótipo ao Hospital das Clínicas de Curitiba, aos cuidados da médica Patricia Povaluk, para testes *in vivo*. A partir dos dados fornecidos pelos testes no HC, observou-se uma melhoria significativa, se comparado à versão 1.1, no grau de correlação. De acordo com a análise estatística do coeficiente de Pearson, obteve-se uma correlação forte (coeficiente de Pearson 0.66). A análise gráfica de Bland-Altman corrobora com esta afirmativa ao passo que a média das diferenças entre as medidas desta versão com as medidas do JM-103 foi de apenas -2,1 mg/dl com a maioria dos dados dentro da região de aceitação.

A versão 2.0, baseada na medição sem contato físico, foi avaliada em laboratório. Para rotina da calibração, avaliou-se a forma de onda para cada cor dos LEDs. Foi observado que, ao final desta rotina, todas as cores dos LEDs apresentaram o mesmo nível de tensão lida pelo fototransistor.

Para validação da rotina de medição foram mensurados os valores lidos pelo fototransistor em superfícies brancas e pretas. Para as superfícies brancas, os valores se aproximaram de 3 500 u.m. (valor referência) tanto para ambientes claros (3 511,5 u.m.) quanto para os escuros (3 461,8 u.m.). A relação sinal ruído destas condições foram de 56,2 dB e 55,3dB para ambientes claros e escuros respectivamente o que indica o correto funcionamento do amplificador lock-in. O desvio padrão em ambos os casos foi baixo (claro: 5.5 u.m. e escuro: 5,9 u.m.)

Posteriormente, avaliou-se as superfícies pretas em que os valores de tensão lidos pelo fototransistor foram baixos: 220,8 u.m. para ambientes claros e 139,3 u.m. para ambientes escuros. Estes valores estão coerentes uma vez

que estão inferiores as medições em superfícies brancas (média: 3 486,7 u.m.). O desvio padrão em ambos os casos foi baixo (claro: 5,2 u.m. e escuro: 5,2 u.m.)

Portanto a principal contribuição desta pesquisa, ao meio científico, refere-se ao desenvolvimento de um bilirrubinômetro – denominado BiliUFPR V2.0, cuja medição é realizada sem contato físico. Esta técnica de medição sem contato apresenta um caráter inovador ao passo que todos os bilirrubinômetros atuais necessitam de toque com a pele do recém nascido para determinação da concentração de bilirrubina. Esta medição à distância resulta em: (1) menor risco de contaminação e disseminação de doenças transmissíveis ao toque, (2) facilidade de medição em ambientes mais restritos (UTIs neonatais) e (3) não oferece desconforto ao recém nascido durante a medição. Não obstante a estas vantagens, é válido ressaltar que o custo final deste bilirrubinômetro foi de aproximadamente R\$ 200.00 bastante inferior aos preços praticados pelo principais fabricantes deste equipamento (Philips e Minolta) os quais apresentam custo de R\$ 20,050.00 e R\$ 35,000.00 respectivamente. Isto torna possível uma maior abrangência desta tecnologia aos hospitais públicos e clínicas médicas. Outra contribuição relevante do projeto foi o desenvolvimento de uma nova técnica de implementação do amplificador *lock-in* cujos custos computacional e financeiro são bastante inferiores aos atuais amplificadores comerciais.

Os próximos passos desta pesquisa será disponibilizar a versão 2.0 ao Hospital das Clínicas de Curitiba de forma a comparar os resultados, *in vivo*, com o bilirrubinômetro JM-103 e com a medição sérica. Esta pesquisa será prosseguida, em conjunto com o HC e através de um projeto de doutorado em Engenharia Elétrica na UFPR, com intuito de aprofundar o estudo a respeito do fenômeno da oxi-hemoglobina (AZEKA, 2009). O propósito deste estudo é tornar a medição da concentração de bilirrubina mais fidedigna ao passo que os atuais bilirrubinômetros comerciais indicam a necessidade desta consideração.

Referências Bibliográficas

- AMATO M, HUPPI P, MARKUS D. ***Assessment of neonatal jaundice in low birth weight infants comparing transcutaneous, capillary and arterial bilirubin levels.*** Eur J Pediatr. 1990;150(1):59-61
- AMATO M, PASQUIER, de Muralt G. ***Transcutaneous bilirubin determination: correlation in white premature infants weighing less than 1500gm.*** Schweiz Med Wochenschr. 1985;115 (27-28):937-938
- AMITI J, TANAKA N, SHIBATA R, DEI T, KAMIHARA K. ***Reliability and future application of a transcutaneous bilirubiniometer.*** Josanpu Zasshi. 1984;38(4):316-321.
- ASYRAF, H. ***Development of real-time patient health (Jaundice) monitoring using wireless sensor network.*** 2016
- BACHIORI, J. ***Light-to-frequency Conversion (Part 1) TSL230R-Based Pulse Oximeter Circuit Cellar.*** The Magazine for Computer Application, 2004, p.26-31.
- BARR, M. ***Programming embedded System in C and C++.*** 1ª ed. Sebastopol: O'reilly Media, 1999.171 p.
- BERTINI G, RUBALTELLI FF. ***Non-invasive bilirubinometry in neonatal jaundice.*** Semin Neonatol.2002; 7:129–133.
- BROWN AK, KIM MH, NUCHPUCKDEE P, BOYLE G. ***Transcutaneous bilirubiniometry in infants: influence of race and phototherapy.*** Pediatrics Res. 1981;15(4)(Supplement):653.
- CLEMONS RM. ***Issues in newborn care. Clinics in Office Practiced. Maternity Care.*** 2000; 27(1):251-67.

DAVIDE, G. ***Understanding bland altman analysis***. *Biochemia medica: Biochemia medica* 25.2 (2015): 141-151

E. H. FISCHER, ***The Evolution of the modern Lock-in Amplifier, DL Instruments Technical Notes IAN35***, 2003, disponível em <http://www.dlinstruments.com/technotes/index.html>

ENK I, ABEGG MP, ALVES RJV, STRINGHANI F, CAMPOS JF, MENEZES HS, JUNG C. ***Icterícia como causa de internação neonatal: a experiência em um serviço terciário de Porto Alegre, RS***. *Rev AMRIGS*. 2009; 53(4): 361-7.

FACCHINI FP. ***Avaliação da variabilidade da dosagem transcutânea de bilirrubina pelo Bilicheck® em neonatos***. *Rev Paul Pediatría* 2006; 24(2):149-54.

SCOTT J. L., ***“Introduction to lock-in amplifiers,” DL Instruments Technical Notes IAN47***, 2002, see <http://www.dlinstruments.com/technotes/index.html>.

JAYARAM, S. K., et al. ***Comparison of Transcutaneous Bilirubinometer reading with serum bilirubin level in evaluating jaundice in newborn more than 32 weeks gestation-a diagnostic test evaluation***. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences* 6.35 (2017): 2874-2879.

KAREN T, BUCHER HU, FAUCHERE JC. ***Comparison of a new transcutaneous bilirubinometer (Bilimed) with serum bilirubina measurements in preterm and full-term infants***. *BMC Pediatrics*. 2009, 9:70.

LEITE MG, GRANATO V de A, FACCHINI FP, MARBA ST. ***Comparison of transcutaneous and plasma bilirubin measurement***. *J Pediatr (Rio J)* 2007;83:283-6.

LUCA D, ZECCA E, TURRIS P, BARBATO G, MARRAS M, ROMAGNOLI C. ***Using Bilicheck™ for preterm neonates in a sub-intensive unit: Diagnostic usefulness and suitability***. *Early Human Development*. (2006).

MAISELS, M. J. ***Historical Perspectives: Transcutaneous Bilirubinometry.*** NeoReviews, 2006, v10.7, p.c217-c225.

MARTINS, R.J., FANAROFF, A. A. e WALSH, M.C. ***Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine-Diseases of the Fetus and Infant.*** 8ª ed. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2006

MITZNER, K. ***Complete PCB design using OrCad Capture and Layout.*** 1ª ed. Burlington: Newnes, 2007. 529p.

MORALES SG, VARGAS LL, UNZUETA MYU, REYES RHB, CARROCERA LAF. ***Encefalopatía bilirrubínica y Kernícterus.*** Perinatol Reprod Hum. 1991;5(4):170

ODELL, G. B. ***Neonatal Hyperbilirubinemia Grune & Startton,*** 1980. 152 p. Série Monographs in Neonatology.

PEARSON, K. ***Note on regression and inheritance in the case of two parents."*** ***Proceedings of the Royal Society of London*** 58 (1895): 240-242.

PICÓ MJC, MACIA MS. ***Hiperbilirrubinemia neonatal: Revisión de la situación actual.*** Rev Cient Enfermería. 2011; 2:1-11.

POVALUK P, SHWETZ RA, KLIEMANN R. ***Estudo comparativo entre a medida plasmática e transcutânea de bilirrubina em recém-nascidos.*** Rev Paul Pediatr. 2011; 29(1): 6-12.

S. SAMIEE, ***Influence of skin colour on diagnostic accuracy of the jaundice mater JM 103 in new born,*** 2013.

S. WOLF and R. F. M. SMITH, ***Electronic Instrumentation Laboratories,*** 2nd ed. (Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 2004).

SPICER, W. E, and C. N. BARGLUND. ***Measurement of photoemitted electron energy distributions by an ac method.*** *Review of Scientific Instruments* 35.12 (1964): 1665-1667.

TANJA K. ***Comparison of a new transcutaneous bilirubinometer (BiliMED) with sérum bilirubin measurements in preterm and full term infants.*** 2009

TEANEY, DALE T., M. P. KLEIN and A. M. PORTIS, ***Microwave superheterodyne induction spectrometer.*** *Review of Scientific Instruments* 32.6 (1961): 721-729.

TIKMANI SS, WARRACIH HJ, ABBASI F, RIZVI A, DARMSTADT GL, ZALDI AKM. ***Incidence of neonatal hyperbilirubinemia: a population-based prospective study in Pakistan.*** *Trop Med Int Health.* 2010; 15(5): 502-7.

TINA, KUMRA, ***Correlation of transcutaneous and sérum bilirubin measurements in outpatient setting.*** 2017

WIENER J. ***Bilirrubina Total AA.*** Rosario: Wiener Laboratorios SAIC 2000, 2 p. Catálogo de produto.

YASUDA, S., IOTH, S. e ISOBE, K. ***New Transcutaneous jaundice decive with two optical path.*** *J Perinat Med*, 2003, vol.21, p.81-88.

ZHELUDEV, N. ***The life and times of the LED – a 100-year history.*** *Nature Photonics*, 2007, vol.1 p, 189-192.

ZIJSTRA, W. G., BUURSMA, A. e ROEST, W. P. M.-V. D. ***Absorprtion spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin.*** *Clinical Chemistry*, 1991, vlo. 37, p. 1633-1638.

Apêndice I. Artigo enviado para a revista RSI (*Review of Scientific Instruments*)

A low cost microcontroller based lock-in amplifier for general purpose signal detection in noisy environments

Mauricio Nardi, Bruno Ricobom, Rafael Mendes and Marlio Bonfim

Laboratory of Magnetism, Measurements and Instrumentation, University Federal of Parana, Curitiba, Brazil

Lock-in amplifiers (LIA) are widely used in laboratory environments to detect low amplitude signals buried in noise. They are based on the technique of synchronous detection, where the signal of interest is modulated in a desired frequency, sent to the medium or device to be analyzed, and captured by a detector. The detector scheme rely on the concept of phase sensitive detection, generally resulting in two components: in-phase and quadrature. This article shows a very simple and low cost way to implement a LIA using standard microcontrollers, running a simple and fast algorithm, connected to a computer for data transfer and visualization. Three examples of signal detection are presented to point out the flexibility and capabilities of the proposed methodology.

I. INTRODUCTION

Phase sensitive detection (PSD) is a quite standard laboratory technique to extract signals from a very low signal-to-noise ratio (SNR) condition. Developed in the 1960's, it has become a ubiquitous experimental technique, and the lock-in amplifier is the instrument which makes this method possible [1, 2, 3]. Stated simply, phase sensitive detection refers to the demodulation of an AC signal by a circuit which is controlled by a reference waveform derived from the device which caused the signal to be modulated. The phase sensitive detector effectively responds to signals which are coherent (same frequency and phase) with the reference waveform and ideally rejects all others.

Both analog and digital versions of LIAs are currently used nowadays. In the analog versions, most of the signal treatment is done by means of analog circuits. In the digital versions, as soon as possible the analog input signal is converted to digital by a high resolution analog to digital converter (ADC), and all the PSD processing is done mathematically by firmware or software. Today's digital lock-in amplifiers outperform analog models in all relevant performance parameters, such as frequency range, input noise, stability and dynamic reserve. In addition to better performance, digital lock-in amplifiers can include multiple demodulators, which allows analyzing a signal with different filter settings or at multiple different frequencies simultaneously [4]. There are many LIAs commercial models available today, and their price varies from US\$ 2,000.00 to US\$ 10,000.00. In this work we report on a digital LIA which costs less than US\$ 20.00 and is able to achieve a SNR above 100 dB. This digital LIA relies on a low cost micro-controller (Texas Instruments MSP430G2553) aside with a couple of analog circuits.

The analog to digital conversion is done by the internal microcontroller ADC (10 bits resolution), thus reducing the overall costs as compared to other implementations of digital LIAs, which normally use external high resolution and high sampling rate ADCs. To overcome the limited internal ADC resolution, oversampling and averaging techniques are used. To overcome the sample rate limitation, we have used a particular approach where the input signal is sampled at exactly the Nyquist frequency.

II. LIA BACKGROUND

In other words, the lock-in amplifier has the ability to improve significantly the SNR of the input signal, and separate the in-phase (0°) and quadrature (90°) components, as compared to an AC reference signal [2, 3, 7]. The output of the LIA will be a voltage that depends on the cosine of the phase difference between the input signal and the reference signal, after filtering the output of the phase sensitive detector [1].

The main components of a lock-in amplifier are the phase sensitive detector (PSD), a phase shifter, an input amplifier, a band-pass filter and a low-pass filter as can be seen on Fig. 1. [1, 2].

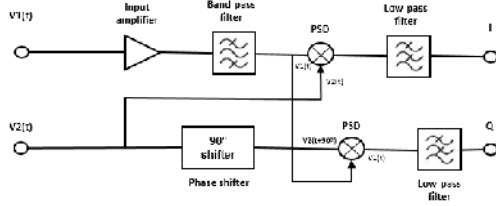


FIG. 1. Block diagram of a classic dual output LIA.

The heart of lock-in amplifier is the synchronous or phase-sensitive detector, which is also known as a demodulator or multiplier. The PSD operates by multiplying two signals (input and reference signal) together to yield the demodulated output signal. Let's consider the input signal $V_1(t)$ and the reference signal $V_2(t)$ as being time varying [1, 2, 8], as described below:

$$V_1(t) = V_{p1} \cdot \cos(\alpha_1 \cdot t) + \theta_1 \quad (1)$$

$$V_2(t) = V_{p2} \cdot \cos(\alpha_2 \cdot t) + \theta_2 \quad (2)$$

where V_{p1} , α_1 and θ_1 are respectively the peak amplitude, the angular frequency and the phase of the input signal and V_{p2} , α_2 and θ_2 are respectively the peak amplitude, the angular frequency and the phase of the reference signal.

The PSD operation consists in multiplying both signals [4,6], then:

$$V_{PSD}(t) = V_1(t) \cdot V_2(t) \quad (3)$$

$$V_{PSD}(t) = V_{p1}(t) \cdot V_{p2}(t) \cdot [\cos(\alpha_1 \cdot t) + \theta_1] \cdot [\cos(\alpha_2 \cdot t) + \theta_2] \quad (4)$$

Considering that the input and the reference signal have the same angular frequency, $\alpha_1 = \alpha_2$

$$V_{PSD}(t) = \frac{V_{p1} \cdot V_{p2}}{2} [\cos(2 \cdot \alpha \cdot t + \theta_1 + \theta_2) + \cos(\theta_1 - \theta_2)] \quad (5)$$

Using the average theorem, one can filter out the high frequency term $\cos(2 \cdot \alpha \cdot t + \theta_1 + \theta_2)$:

$$V_{PSD}(t)_{avg} = \int_0^T [\cos(2 \cdot \alpha \cdot t + \theta_1 + \theta_2) + \cos(\theta_1 - \theta_2)] \cdot dt \quad (6)$$

Thus, we can easily get:

$$V_{PSD}(t)_{avg} = \frac{V_{p1} \cdot V_{p2}}{2} \cdot \cos(\theta_1 - \theta_2) \quad (7)$$

So, to obtain the in-phase term of the input signal $\theta_2 = 0^\circ$ and for the quadrature term $\theta_2 = \frac{\pi}{2}$, thus:

$$V_{PSDI_{avg}} = \frac{V_{p1} \cdot V_{p2}}{2} \cdot \cos(\theta_1) \quad (8)$$

$$V_{PSDQ_{avg}} = \frac{V_{p1} \cdot V_{p2}}{2} \cdot \cos(\theta_1 - \frac{\pi}{2}) \quad (9)$$

In a classical digital LIA implementation, a high sampling rate and high resolution ADC is used to capture the input signal, while the reference signals (in-phase and quadrature) are numerically created and digitally multiplied by the result of the ADC. High resolution (e.g. 16 bits) and high sampling rate ADC are normally used to do this task, leading to high costs [3, 4]. In our low cost LIA implementation, we used the internal microcontroller ADC, which has 10 bits of resolution and a maximum sampling rate of 200 kS/s. To overcome the sampling rate limitation, we work on a Nyquist condition, i.e., taking only two samples per period of the reference signal.

As depicted on Fig. 2, the in-phase result is obtained by sampling the amplitude of the input signal at phases 90° and 270° and computing its difference. The quadrature signal, in turn, is obtained by sampling the input signal at phases 0° and 180° and again computing its difference. The resulting amplitude is then the peak-to-peak amplitude of the input signal, at a given phase. Mathematically speaking, this method can be described as following. Considering a sine function as described:

$$S = Vp \cdot \sin(\alpha) \quad (10)$$

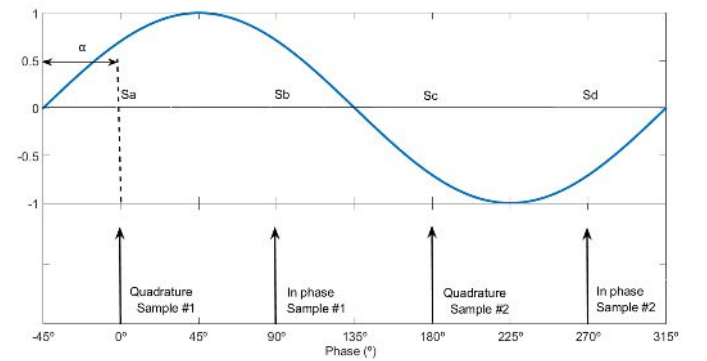


FIG. 2. Representation of the samplings (two in-phase and two quadrature) in our LIA implementation. The in-phase result is taken from the difference between the 90° and 270° samples. The quadrature result is taken from the difference between the 0° and 180° samples.

If we choose the quadrature samples at $S_a(\alpha)$ and $S_c(\alpha + \pi)$. The difference between S_a and S_c will result in the equations below:

$$S_a = V_p \cdot \sin(\alpha) \quad (11)$$

$$S_c = V_p \cdot \sin(\alpha + \pi) \quad (12)$$

Considering the value of this PSD is provided by the difference between S_a and S_c , it will result:

$$V_{PSD'Q} = S_a - S_c = V_p \cdot [(\sin(\alpha) - \sin(\alpha + \pi))] \quad (13)$$

$$V_{PSD'Q} = 2 \cdot V_p \cdot \sin(\alpha) \quad (14)$$

On the other hand, if we choose the in-phase samples:

$$S_b = V_p \cdot \sin(\alpha + \frac{\pi}{2}) \quad (15)$$

$$S_d = V_p \cdot \sin(\alpha + \frac{3\pi}{2}) \quad (16)$$

$$V_{PSD'I} = S_b - S_d = V_p \cdot [(\sin(\alpha + \frac{\pi}{2}) - \sin(\alpha + \frac{3\pi}{2}))] \quad (17)$$

$$V_{PSD'I} = 2 \cdot V_p \cdot \cos(\alpha) \quad (18)$$

$$V_{PSD'I} = 2 \cdot V_p \cdot \sin(\alpha + \frac{\pi}{2}) \quad (19)$$

If the input signal is in-phase with the reference signal ($=0$), the in-phase output $V_{PSDI} = 2V_p$ and the quadrature output $V_{PSDQ} = 0$. If the input signal is in quadrature with the reference signal ($=90^\circ$), the in-phase output $V_{PSDI} = 0$ and the quadrature output $V_{PSDQ} = 2V_p$.

Comparing this result to the standard LIA implementation, it's easy to verify that the same information can be obtained from the input signal. Moreover, the resulting amplitude of the detected signal is four times that of the standard LIA, if we consider the reference signal as having a normalized peak amplitude of 1 V.

III. OUR LIA IMPLEMENTATION

In terms of hardware, our LIA approach consists essentially in a microcontroller and a band-pass filter. The main parts used of the microcontroller are the PWM modulator, the ADC and the arithmetic logic unit (ALU).

The PWM generates the reference frequency, a square wave used to modulate in amplitude the input signal. The ADC takes samples of the input signal (after filtering), synchronously with the PWM frequency. The sampling results are sent to the ALU for calculations and finally the processed values are sent to a computer. The firmware executed by the microcontroller is shown as a flowchart on Fig 3. The PWM frequency must be adjusted according to the center frequency of the band-pass filter and the desired application.

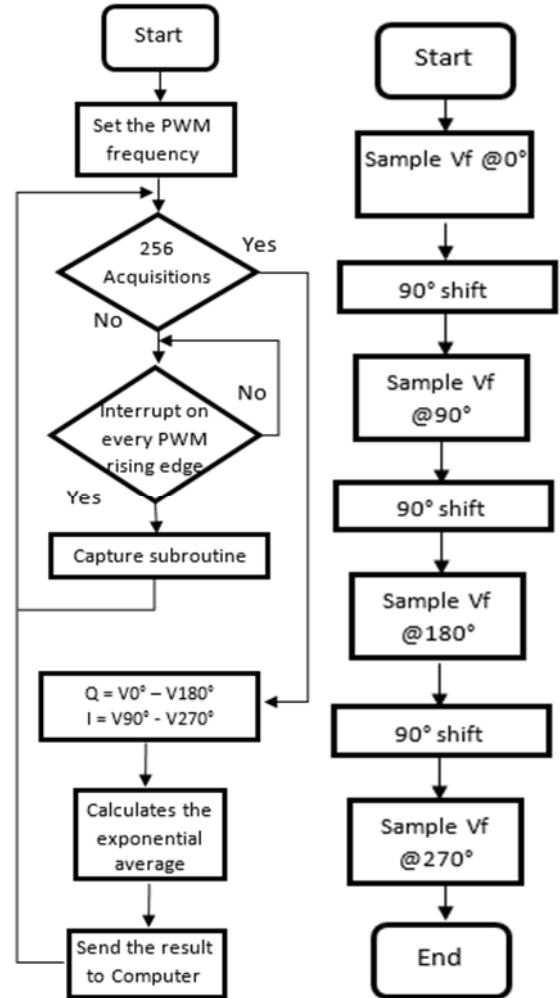


FIG. 3. Firmware flowchart – main loop (left) and acquisition subroutine (right)

In order to improve the quality of the sampled signal, an average of 256 samplings is done for every point of measurement. Afterwards, this average result is passed through an exponentially weighted average filter (EWMA), which corresponds to a first order low-pass filter, whose time constant can be numerically chosen by the sample frequency and the alpha coefficient.

$$\bar{x}[i] = \bar{x}[i-1] + (1 - \alpha) \cdot x[i] \quad (20)$$

where $\bar{x}[i]$, N_m and α are respectively the current value of exponentially weighted moving average, total measurements and filter exponential coefficient

In our current implementation, the base sampling frequency is 7.8 kS/s, which gives a sampling frequency to the EWMA filter of about 30 S/s. Considering an alpha of 0.1, the time constant of our LIA implementation is around 0.1 s. This value can be easily altered to fit the needs of each experiment. In general terms, the higher the time constant of a LIA, the better SNR can be obtained.

In order to improve SNR and guarantee a sinusoidal waveform at the input of the ADC, we have used a second order multi feedback active band-pass filter, whose circuit can be seen on Fig. 04.

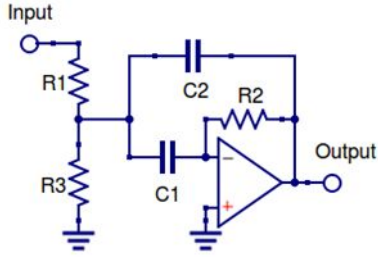


FIG.4. Schematic diagram of the second order multi feedback active band-pass filter used in our LIA implementation prior to the ADC conversion.

The filter center frequency f_c , quality factor Q and maximum gain A_{\max} can be calculated by the following equations:

$$f_c = \frac{1}{2\pi\sqrt{R_{eq} \cdot R_2 \cdot C_1 \cdot C_2}} \quad (22)$$

$$R_{eq} = \frac{R_1 \cdot R_3}{R_1 + R_3} \quad (23)$$

$$Q = \frac{\sqrt{R_2}}{2} \cdot \frac{R_1}{R_3} \quad (24)$$

$$A_{\max} = -\frac{R_2}{2 \cdot R_1} \quad (25)$$

The gain A_{\max} must satisfy the condition $A_{\max} < 2 \cdot Q^2$

In our LIA implementation we have chosen the filter center frequency to be 3.9 kHz. This frequency is quite far from the mains supply fundamental frequency and harmonics, and also far from the switching frequency of electric light bulbs used nowadays (which ranges from 20 kHz to 40 kHz). The frequency response of the band-pass filter used in our LIA is shown in Fig. 5.

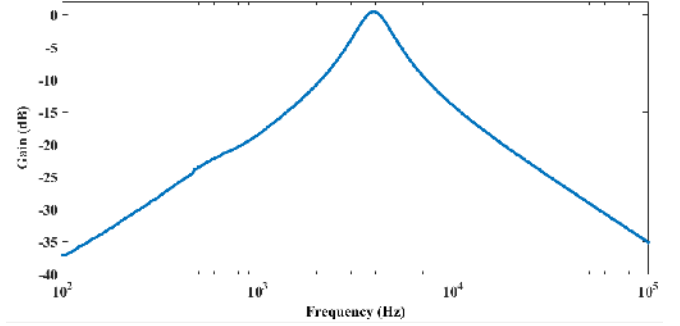


FIG. 5. Frequency response of the band-pass filter measured with a Vector Network Analyzer (HP3577A), showing a center frequency of 3.9 kHz.

IV. EXPERIMENTAL RESULTS

In order to prove the efficiency of our approach to a LIA based on two samples per period, we have implemented three different experiments using the same basic setup, but different excitation/detection signals: sound, light and electrical.

A. Sound wave signal

In this experiment, a source of sound waves (loudspeaker excited by an electrical PWM square wave of 3.9 kHz, 50 mW) was used as a reference signal and an electret condenser microphone was used to capture the sound and convert it back to an electrical signal (LIA input), as can be seen on Fig. 6.

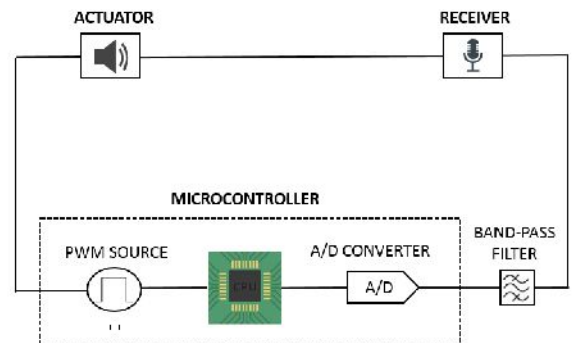


FIG.6. The LIA simplified diagram of sound signal

The microphone was mounted in a motorized translation stage, in order to vary the distance between itself and the loudspeaker. According to the sound wave propagation, the phase of the front wave sensed by the microphone depends linearly upon the distance from the source. One complete cycle of the wave can be associated with an "angular" displacement of 2π radians. The angular frequency of a wave is the number of radians per unit time at a fixed position, whereas the wave number k is the number of radians per unit distance at a fixed time. Moving the microphone one apart from the loudspeaker in a constant velocity, results in a sinusoidal shape of the input signal, whose phase depends on the distance, as shown in Fig. 7. The in-phase and quadrature signals results from the LIA dual demodulation outputs.

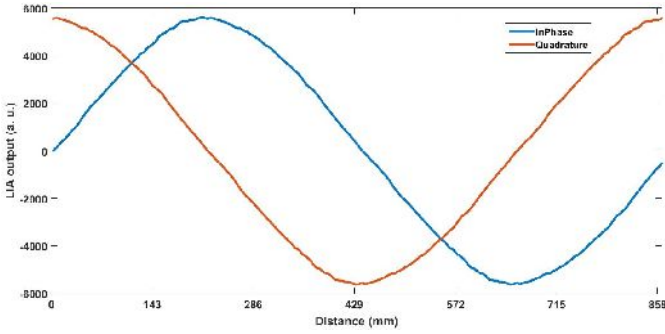


FIG.7. The in-phase (blue) and quadrature (orange) terms of a 3.9 kHz sound wave signal, acquired by changing the distance from the microphone to the loudspeaker. A complete period corresponds to a distance of 86 mm.

Therefore, considering this measurement, one can easily deduce the speed of the sound wave in air. The measured wavelength was 86 mm, at a frequency of 3.9 kHz, thus:

$$v = \lambda \cdot f \quad (26)$$

$$v = 0.086 \cdot 3900$$

$$v = 335.4 \text{ m/s}$$

This result is in good agreement with the sound velocity in air.

B. Light wave signal

The light detection setup used as a light source a green LED modulated in amplitude by the PWM electrical signal (square wave of 3.9kHz, $I_{pk} = 10 \text{ mA}$). The light detection was done by a SFH300 (Osram) phototransistor. In order to show the capabilities of our LIA approach in recovering a tiny signal out of a large noise.

This setup was designedly mounted under the presence of fluorescent and sunlight. A simplified diagram of this setup is depicted in Fig. 8.

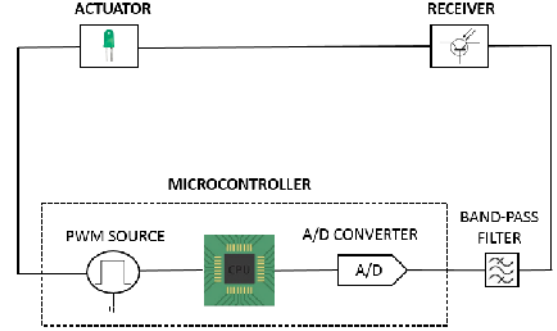


FIG. 8. The LIA simplified diagram for the measurement of a modulated light signal.

The luminous flux measured from the LED itself, in a dark room, was 0.017 lux. Using our LIA to measure the LED intensity in the same dark condition, resulted in 41.65 mV (magnitude of the complex output). With this measurement, one can deduce the relation between LIA voltage and the luminous flux from the modulated LED (signal sensitivity), which results in 2.45 V/lux. The same measurement was then repeated under the presence of ambient light, with a total luminous flux (fluorescent and sunlight) of 499 lux. In this condition, the LIA measurement resulted in 42.98 mV. Considering that the additional 1.33 mV is due to the ambient light (noise), the relation between the LIA voltage and the ambient light (noise sensitivity) is $2.67 \mu\text{V/lux}$. According to these statements, the signal to noise ratio of this measurement can be calculated as:

$$SNR = \frac{2.45}{2.67 \cdot 10^{-6}} = 917603 \quad (27)$$

The resulting SNR in dB is then:

$$SNR_{dB} = 20 \cdot \log_{10}(917603) = 119 \text{ dB} \quad (28)$$

This SNR value is comparable to that of commercial digital LIAs.

C. Electrical impedance meter

The Fig. 9 shows the LIA simplified diagram used in order to measure electrical impedance. The excitation source (PWM with a frequency of 3.9 kHz) is fed to the unknown impedance R_x through a known resistor R_s . The resistor R_s has the main function of limiting the current supplied by the PWM output of the microcontroller. The third resistor R_L is known and represents the input impedance of the band-pass filter. The LIA measures then the voltage V_d across the unknown impedance R_x . Therefore, the voltage V_d depends on the impedance R_x . As our LIA has the in-phase and quadrature outputs, the real and imaginary parts of V_d can be obtained, allowing the measurement of reactive circuit elements like capacitors and inductors. Prior to the impedance measurement, a calibration routine is run to obtain the voltages for $R_x=0$ (short-circuit) and $R_x=\infty$ (open-circuit). The resulting values (real and imaginary parts) are stored and used afterwards to perform the impedance calculation. All the calculations should consider complex numbers.

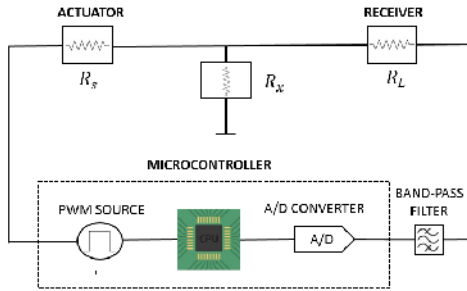


FIG. 9. The LIA simplified diagram for the measurement of a modulated electric signal.

The equation for finding the impedance R_x can be deduced by circuit analysis. This equation takes into account two limits states of the impedance R_x , open circuit ($R_x = \infty$) and short circuit ($R_x = 0$). The equation for determining R_x is:

$$R_x = \frac{R_L R_S (V_{ORx} - V_{Rx=0})}{R_L + R_S (V_{ORx=\infty} - V_{Rx})} \quad (29)$$

where R_x , R_L , R_S , V_{Rx} , $V_{Rx=0}$, $V_{Rx=\infty}$ are respectively unknown impedance [Ω], load impedance [Ω], source Impedance [Ω], voltage when there is an unknown impedance R_x [V], voltage when there is short circuit in R_x [V] and voltage when there is open circuit in R_x [V].

The tables 1 and 2 show the experimental results for the measurement of resistors, capacitors and inductors. As a reference, we have compared our impedance measurements to the impedance obtained by a commercial vector network analyzer HP3577A. This comparison shows a good agreement of the results for resistors, capacitors and inductors.

To perform the impedance measurement, the microcontroller reads the voltage V_f for the case of open circuit and short circuit storing these values. After this, the impedance to be measured is connected and the voltage value V_f is acquired again. From these values, the impedance R_x is calculated.

The Tables I and II show the experimental results for resistor, capacitance and inductance.

TABLE I: Results of resistance measurements

Component/Resistor	10 Ω	1k Ω
Network analyzer HP3577	9,95 Ω / 0,54°	969,1 Ω / 13,8°
Digital Multimeter Minipa ET-2650-A	10,4 Ω	989 Ω
Lock in impedance measurement	10,06 Ω / -0,07°	1006,71 Ω / 3,23°

TABLE II: Results of inductance and capacitance measurements

Component	Capacitor Polyester 100nF	Inductor 1mH
Network analyzer HP3577	472,36 Ω / -90,1° (86,39nF)	22,31 Ω / 80,61° (910,6mH)
Lock in impedance measurement	435,9 Ω / -86,0° (93,62nF)	29,33 Ω / 86,33° (1,19mH)

IV. CONCLUSION

The lock in amplifier is a very powerful tool to recover weak signals in a noisy environment. Our digital LIA approach simplifies the hardware and software requirements to get a dual output (in-phase and quadrature) at a very low cost. Simple digital signal processing algorithms were used to implement the various mathematical calculations required by the digital LIA, as for instance the Nyquist sampling and subtraction, instead of oversampling and multiplication. This reduces the requirements for the processing performance of the microcontroller, allowing the use of low cost and low power ones.

To prove the efficiency and versatility of our LIA approach, we have shown three different experiments using sound, light and electrical signal. The results of these experiments were validated by comparison to standards. From the light measurement disturbed by a large amount of environmental noise, we were able to calculate a SNR of 119 dB.

From the impedance measurements, our LIA proves its effectiveness in measuring the real and imaginary parts, allowing the measurement of reactive components such as capacitors and inductors. Further improvements can be done in order to increase the modulation frequency and to provide the capability of detecting signals which are harmonics of the reference frequency (2F, 3F, etc.). This is very useful in experiments using non-linear devices.

ACKNOWLEDGMENTS

This work is supported by the Federal University of Paraná (UFPR) and Fundação Araucária.¹K.

¹ K. Huang, H. Le Jeannic, J. Ruaudel, O. Morin, and J. Laurat, "Microcontroller-based locking in optics experiments".

² J. L. Scott, "Introduction to lock-in amplifiers," DL Instruments Technical Notes IAN47, 2002, see <http://www.dlinstruments.com/technotes/index.html>.

³ S. Wolf and R. F. M. Smith, Electronic Instrumentation Laboratories, 2nd ed. (Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 2004).

⁴ E. H. Fisher, "The Evolution of the modern Lock-in Amplifier, DL Instruments Technical Notes IAN35, 2003, see <http://www.dlinstruments.com/technotes/index.html>"

⁵ Spicer, W. E., and C. N. Barglund. "Measurement of photoemitted electron energy distributions by an ac method." Review of Scientific Instruments 35.12 (1964): 1665-1667.

⁶ Teaney, Dale T., M. P. Klein and A. M. Portis, "Microwave superheterodyne induction spectrometer." Review of Scientific Instruments 32.6 (1961): 721-729.

⁷ Geschwind, Stanley. "Paramagnetic resonance of Fe 3+ in octahedral and tetrahedral sites in yttrium gallium garnet (YGaG) and anisotropy of yttrium iron garnet (YIG)." Physical Review 121.2 (1961): 363.

⁸ Probst, Pierre Alain and Alain Jaquier. "Multiple-channel digital lock-in amplifier with PPM resolution." Review of scientific instruments 65.3 (1994): 747-750.

Apêndice II. Programação do microcontrolador MSP430G2553

```
//***** BILI – UFPR VERSÃO 2.0 *****
// Autores: Bruno Ricobom
//          Marlio Bonfim
//          Maurício Nardi
//          Rafael Furtado
//*****
// DATA   | Descrição
//*****
// 19/07/2016 | Criação do código
// 24/0/2017  | Merge do programa do lock-in
// 02/05/2017 | Alteração do PWM para P2.4 - Timer 1 (timer 0 não tem mais
//            | saídas)
// 27/05 / 2017 | Alteração do valor aproximação sucessiva para 3500

//-----
//      Inicialização das variáveis globais
//-----

#include <msp430.h>
#include <stdio.h>
#include <stdlib.h>
#include <math.h>
#include "aux_time.h"
//#include "lcd_bili_i2c.h"

#define medias_adc (64 + 1) // +1 Para compensar a perda da primeira amostra
#define freq_pwm 1438 //12MHz/2/1438"= 4.17 kHz => frequência central do
filtro
#define ApSu_value 10000 // menor 1023*medias_adc = 65 472
enum {INICIA = 0,
AGURADA_CALIBRACAO,
CALIBRAR,
AGUARDA_MEDIDA,
MEDINDO};

enum {false = 0,
true};

char buffer [17],buffer_serial[45],estado =
INICIA,count_serial,count_medias,flag_medias_adc,interacoes = 0;
float concentracao = 0, concentracao_corrigida=0,concentracao_media = 0;
unsigned int Sample_2=0, Sample_4=0;
long medias_ADC = 0,medias_ADC_res = 0;
unsigned int j1 = (int)(freq_pwm/2),j2 =
(int)(freq_pwm/4),k=0,i=0,LED[4],VCC,cor,bitcor;
unsigned char byte_rec;
int Real = 0;
```

```
unsigned long medida[4],calib[4]; // medida2[4] verificar essa variavel
char bat = 1;
```

```
//-----
//      Rotina de inicialização do microcontrolador
//-----
void config_hardware()
{
    WDTCTL = WDTPW+WDTHOLD;    // Desativar o WDT
    set_osc_freq_MHZ(12);      // seta variavel para uso da funcao daly_ms()
}

//-----
//      Rotina de configuração das saídas externas
//-----
void config_IO()
{
    P1DIR |= BIT0; // Configurar P1.0 como saída (LED para indicacao)
    P1OUT &= ~BIT0;
    P1DIR = P1DIR & ~BIT3; // Configura botao P1.3 como entrada
    P1DIR = P1DIR & ~BIT4; // Configura botao P1.4 como entrada
    P1REN = P1REN | BIT3; // Habilita resistor interno de pull-up/down na P1.3
    (botao)
    P1REN = P1REN | BIT4; // Habilita resistor interno de pull-up/down na P1.4
    (botao)
    P1OUT = P1OUT | BIT3; // Ativa resistor interno de pull-up na P1.3 (botao)
    P1OUT = P1OUT | BIT4; // Ativa resistor interno de pull-up na P1.4 (botao)
    P2DIR |= BIT3 + BIT2 + BIT1 + BIT0; // Configuracao P2.0 P2.1 P2.2 P2.3
    como saida para fechar circuito do LED Laser /
    P2DIR |= BIT6;    // configura 2.6 como saída do PWM de controle de corrente
    P2SEL |= BIT6;    // Configura P2.6 como funcao especial de PWM de controle
    de corrente
    P2SEL2 &= ~BIT6;  // Configura P2.6 como funcao especial de PWM de
    controle de corrente
    P2SEL &= ~BIT7;   // Configura P2.6 como funacao especial de PWM de
    P3SEL |= BIT6;    // configura 3.6 como funcao especial de PWM de 50%
    P3SEL2 = 0;      // configura 3.6 como funcao especial de PWM de 50%
}

//-----
//      Rotina de configuração dos timers A0 - PWM
//-----
void config_PWM()
{
    TA0CCR0 = freq_pwm; //2868; //freq_pwm; // Define valor máximo do timer 0
    para que fPWM = 3.9 kHz
    TA0CCR1 = j1; //2868 /2; //j1; // Armazena o valor de j1 para configurar a
    largura de pulso em cada LED em TA0CCR1 (P2.6)
```

```

TA0CCR2 = freq_pwm / 2; //2868 /2; //j1;//(int)(freq_pwm/2) ; //configura largura
de pulso do pwm 2 para 50 % em TA0CCR2 (P3.6)
TA0CCTL1 = OUTMOD_3; // Ativa modo ccomparação. P2.6: nível "0" para
TAR < TA0CCR1 e nível "1" para TAR > TA0CCR1
TA0CCTL2 = OUTMOD_4; // Ativa modo comparação. P3.6: nível "0" para TAR
< TA0CCR2 e nível "1" para TAR > TA0CCR2
TA0CTL = TASSEL_2 + MC_0; // Timer A0 control: SMCLK=16MHz ,
contagem progressiva at TA0CCR0 modo MC_1
}

```

```

//-----
//      Rotina de configuração da Interface Serial
//-----

```

```

void config_uart()
{
P1SEL  |= (BIT1 + BIT2);    // + BIT5); // P1.1 = RXD, P1.2 = TXD
P1SEL2  |= (BIT1 + BIT2);    // P1.1 = RXD, P1.2 = TXD
UCA0BR1 = 0x04;             //12 MHz, 9600
UCA0MCTL = 0x00;            //12 MHz, 9600
UCA0CTL1 &= ~UCSWRST;       // **Initialize USCI state machine**
IE2     |= UCA0RXIE;        // Enable USCI_A0 RX interrupt
}

```

```

//-----
//      Rotina para enviar um byte pela Interface Serial
//-----

```

```

void enviar_byte( unsigned char byte_env )
{
while (!(IFG2&UCA0TXIFG));    // buffer de saída vazio
UCA0TXBUF = byte_env;        // Escreve byte no buffer de saída
}

```

```

//-----
//      Rotina de configuração do ADC
//-----

```

```

void config_adc()
{
ADC10CTL0 = SREF_0;          // Vref = Vcc
ADC10CTL0 |= ADC10SHT_0;     // Sample and Hold Time =
4*ADC10CLKs
ADC10CTL0 |= ADC10ON;         // ADC10 ON
ADC10CTL1 = INCH_5 + ADC10DIV_1 + ADC10SSEL_2; // in channel 5 +
ADC10 clock divide by 2 (12MHz/2=6MHz) + ADC10 clock= MCLK
ADC10AE0 |= BIT5;            // P1.5 hab. para entrada analogica
}

```

```

//-----
//      Configuração do I2C
//-----

```

```

void configurar_I2C(void)

```

```

{
P1DIR  |= BIT7 + BIT6;
P1SEL  |= BIT6 + BIT7;      // Assign I2C pins to USCI_B0
P1SEL2 |= BIT6 + BIT7;      // Assign I2C pins to USCI_B0
__delay_cycles(10000);
UCB0CTL1 |= UCSWRST;        // I2C em estado de Reset
UCB0CTL0 = UCMST + UCMODE_3 + UCSYNC; // I2C Master, synchronous
mode
UCB0CTL1 = UCSSEL_2;        // CLK = SMCLK
UCB0BR1 = 0;
UCB0BR0 = 120;              // fSCL = SMCLK/120 = 100 kHz -
*****VERIFICAR FREQ. DO I2C***** CLOCK EM 12MHz ANTES
: %d calib: %ld Med: %ld \n \0", cor, LED[cor] , calib[cor], medida[cor]);
count_serial = 0;
while(buffer_serial[count_serial] != '\0')
{
enviar_byte(buffer_serial[count_serial]);
count_serial++;
}
}
//-----
//  Rotina lock_in
//-----
void lock_in()
{
Sample_2 = 0;
Sample_4 = 0;
TA0CCTL2 |= CCIE;          // Habilita interrupcao do timer (Quando
TA0CCTL2 == 0)
while(count_adc < medias_adc); //Espera o processo de amostragem terminar,
ou seja, até count_adc = medias_adc
TA0CCTL2 &= ~CCIE;         // Desabilita interrupcao do timer (Quando
TA0CCTL2 == 0)
count_adc = 0;
Real = abs((Sample_2 >> 3) - (Sample_4 >> 3)); //decimacao para 64 medias
(ln64/ln4)
}
//-----
//  Rotina de calibracao temporizada
//-----
void calibracao()
{
TA0CTL |= MC_1;            // Habilita contagem do timer com frequencia de
clock 12MHz / 1
bitcor = 1;               // Inicia variável de controle de acionamento dos LED lasers
cor = 0;
for (cor = 0; cor < 4; cor++)
{
// Alterna entre LED (0 = Infra, 1= Verde, 2= Vermelho, 3= Azul)
j1 = freq_pwm/2;

```

```

j2 = freq_pwm/4;
P2OUT = (P2OUT & 0xF0) | (~bitcor & 0x0F); // Configura saidas 2.(cor) habilite
de espera para o sinal do filtro passa-baixa estabilizar
lock_in();
calib[cor] = Real;
if (calib[cor] > 3500)
{
j1 = j1 - j2;
}
else
{
j1 = j1 + j2;
}
j2 = j2 >> 1; // divide j2 para nova calibracao
}
LED[cor] = j1; // Armazena valor de pulso PWM no valor LED para cada cor
bitcor = bitcor << 1; // Habilitar proximo LED laser
envia_dados_via_serial(); // envia os dados de calibração de cada LED
}
P2OUT |= 15; // Apaga todos os LEDs
TA0CTL &= ~MC_1; // Desabilita contagem do timer
}

```

```

//-----
// Rotina de medicao
//-----
void medicao (void)
{
TA0CTL |= MC_1; // Habilita contagem do timer com frequencia de
clock 12MHz / 1
bitcor=1; // Inicia variável de controle de acionamento dos LED lasers
for(cor = 0; cor < 4; cor++)// Alterna entre LED 0 at LED 3 (0 = Verde, 1=
Vermelho, 2= Laranja, 3= azul)
{
medida[cor] = 0;
P2OUT = (P2OUT & 0xF0) | (~bitcor & 0x0F);
TA0CCR1 = LED[cor]; // Enviar pulso PWM salvo da calibracao para cada cor
__delay_cycles(60000);
lock_in();
medida[cor] = Real;
bitcor = bitcor << 1; // Habilitar próximo LED laser //
envia_dados_via_serial();
}
P2OUT |= 15; // Apaga todos os LEDs lasers
TA0CTL &= ~MC_1; // Desabilita contagem do timer
}

```

```

//-----
// Rotina de concentracao
//-----

```

```

void calc_concentracao()
{
j3 = 10000* (med_norm[0] / med_norm[3]) ;
j4 = 10000* (med_norm[2] / med_norm[1]) ;
//-----
//      Rotina para leitura da tensao de alimentaçao
//-----

void verifica_bateria() //funcao para medir tensao bateria
{
ADC10CTL0 &= ~ENC;    //desabilita o ADC e permite mudança do canal de
entrada
ADC10CTL1 = INCH_11;    // leitura do AD canal 11
__delay_cycles (80000);    // delay necessario para etabilizar a leitura AD
for (k = 0; k < 4; k++)
{
ADC10CTL0 |= ENC + ADC10SC;    // Iniciar conversao do ADC
while(ADC10CTL1 & BUSY);    //espera final de conversao
VCC += ADC10MEM;    //acumula em dado0 os 16 valores convertidos
}
VCC = VCC/4;    // divide por 4
ADC10CTL0 &= ~ENC;    //desabilita o ADC e permite mudança do canal de
entrada
ADC10CTL1 = INCH_5;    // Habilitar leitura A/D do canal 5
if (VCC < 737)
{
bat = 0;
}
else
{
bat = 1;
}
}
//-----
//      Rotina principal
//-----

int main()
{
config_hardware();
config_IO();
config_PWM();
config_adc();
configurar_I2C();
delay_ms(7);
LCD_clear();
_BIS_SR(GIE);    // Ativa todas as interrupoes

while(1)
{

```

```

if(~P1IN & BIT3){ //Botao calibrar pressionado
calibracao();
}
if(~P1IN & BIT4){ //Botao medicao pressionado
medicao();
}
}
while(1)
{
switch(estado)
{
case INICIA:
lcd_out(1," CALIBRAR");
lcd_out(2,"PRESS CALIBRAR");

if(~P1IN & BIT3) //Botao calibrar precionado
{
while(~P1IN & BIT3);
estado = AGURADA_CALIBRACAO;
LCD_clear();
}
break;
case AGURADA_CALIBRACAO:
lcd_out(1,"APROXIME FOLHA ");
lcd_out(2,"CALIBR DO SENSOR");
if(~P1IN & BIT4) //Botao do sensor
{
estado = CALIBRAR;
LCD_clear();
}
break;
case CALIBRAR:
lcd_out(1,"CALIBRANDO...");
verifica_bateria();
calibracao();
medicao();
calc_concentracao();
if (bat)
lcd_out(2,"BATERIA OK");
else
lcd_out(2,"CARREGAR BATERIA");
if(concentracao > 0.5)
{
lcd_out(1,"RECALIBRAR");
delay_ms(800);
LCD_clear();
estado = AGURADA_CALIBRACAO;
}
else
{

```

```

lcd_out(1,"CALIBRACAO OK");
delay_ms(800);
LCD_clear();
estado = AGUARDA_MEDIDA;
}
break;
case AGUARDA_MEDIDA:
lcd_out(1,"AGUARDANDO MEDIDA");
if(~P1IN & BIT4) //Botao do sensor
{
estado = MEDINDO;
LCD_clear();
}
if(~P1IN & BIT3) //Botao calibrar precionado
{
while(~P1IN & BIT3);
LCD_clear();
estado = AGURADA_CALIBRACAO;
}
break;
case MEDINDO:
lcd_out(1," MEDINDO... ");
concentracao_medio = 0;
concentracao_corrigida_medio = 0;
medicao();
calc_concentracao();
envia_dados_via_serial();
sprintf(buffer,"Conc=%.2f mg/dl",concentracao);

lcd_out(2,buffer);
lcd_out(1," MEDIDO!!! ");
while(~P1IN & BIT4); // agurada soltar o sensor
estado = AGUARDA_MEDIDA;
break;
}
}
//-----
// Rotina de Interrupcao do PWM - Toda borda de subida
//-----
#pragma vector=TIMER0_A1_VECTOR
__interrupt void PWM_fall(void) //Sincronizado com a rampa de descida do
PWM
{
__delay_cycles(160); //(171)
__delay_cycles(682); //644
ADC10CTL0 |= ENC + ADC10SC; // Inicia nova conversão no AD
P1OUT |= BIT0; //Acende led para verificacao do sincronismo da
fase
while(ADC10CTL1 & BUSY); //espera final de conversão
P1OUT &= ~BIT0;

```



```

Sample_2 += ADC10MEM;          // Sample_2 = ADC_pico
__delay_cycles(1364);
ADC10CTL0 |= ENC + ADC10SC;    // Inicia nova conversão no AD
P1OUT |= BIT0;                 //Acende led para verificacao do sincronismo da
fase
while(ADC10CTL1 & BUSY);        //espera final de conversão
P1OUT &= ~BIT0;
Sample_4 += ADC10MEM;          // Sample_4 = ADC_vale
TA0CCTL2 = TA0CCTL2 & ~CCIFG;
P1OUT |= BIT0;
count_adc++;
if (count_adc == 1) //Elimina a primeira amostra - problema de sincronismo à
fase na primeira aquisição
{
Sample_2 = 0;
Sample_4 = 0;
}
P1OUT &= ~BIT0;
}
//-----
//  Rotina de Interrupção de recepção de um byte pela UART
//-----
#pragma vector=USCIAB0RX_VECTOR
__interrupt void recebe_byte(void)
{
byte_rec = UCA0RXBUF; //vetor de interrupção no endereço especificado no
UCA0RXBUF
}

```